T.C.
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

DİYABETİK AYAK ENFEKSİYONU İLE IL-6 (-174G>C) ve TNF-α (-238G>A) GEN POLİMORFİZMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ

Dr. Rukiye İNAN SARIKAYA

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Emine PARLAK

ERZURUM - 2022

T.C.
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

DİYABETİK AYAK ENFEKSİYONU İLE IL-6 (-174G>C) ve TNF-α (-238G>A) GEN POLİMORFİZMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ

Dr. Rukiye İNAN SARIKAYA

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Emine PARLAK

Bu tez 7424 protokol no'lu proje olarak Atatürk Üniveristesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

ERZURUM - 2022

İÇİNDEKİLER

TABLOLAR DİZİNİ

ŞEKİLLER DİZİNİ

KISALTMALAR DİZİNİ

ABI : Ayak bileği/kol basınç indeksi (ankle-brachial indeks)
ADA : Amerikan Diyabet Derneği
ADAM-17 : Metallopeptidaz bölge 17
ApoE : Apolipoprotein E
BGT : Bozulmuş glukoz toleransı
CFU : Koloni oluşturan birim
CRP : C reaktif protein
DA : Diyabetik ayak
DAE : Diyabetik ayak enfeksiyonu
DAİCG : Diyabetik Ayak İnfeksiyonları Çalışma Grubu
DAÜ : Diyabetik ayak ülseri
DM : Diabetes mellitus
DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü
EGF : Epidermal growth faktörü
eNOS : Endotelyal nitrik oksit sentaz
ESH : Eritrosit sedimentasyon hızı
FGF-2 : Fibroblast growth factor-2
GDM : Gestasyonel DM
Gp : Glikoprotein
gp130 : Glikoprotein 130
GSBL : Genişlemiş spektrumlu β-laktamaz
HBOT : Hiperbarik oksijen tedavisi
HLA : İnsan Lökosit Antijenleri
HSP : Heat Shock Protein (Isı şok proteini)
HT : Hipertansiyon
IDF : Uluslararası Diyabet Federasyonu
IDSA : Infectios Diseases Society of America
IFN-γ : İnterferon gama
IL-1 : İnterlökin-1
IL-2 : İnterlökin-2

IL-6 : İnterlökin-6

IL-10 : İnterlökin-10

IWGDF : International Working Group of Diabetic Foot

JAK/STAT : Janus Kinaz/Sinyal İleticisi Transkripsiyon Aktivatörü

KAH **:** Koroner arter hastalığı

KRY : Kronik böbrek yetmezliği

LPS : Lipopolisakkarit

LT-α : Lenfotoksin-α

MAPK : Mitogen-activated protein kinase

MHC : Majör Histokompatibilite Kompleksi

MI : Miyokard infarktüsü

MMPs : Matriks metalloproteinazlar

MMP9 : Matriks metalloproteinaz-9

MRG : Manyetik rezonans görüntüleme

MRKNS : Metisilin-rezistan koagülaz negatif stafilokoklar

MRSA : Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

MSKNS : Metisilin-sensitif koagülaz negatif stafilokoklar

MSSA : Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*

NADPH : Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

NF- Kb : Nükleer faktörü kappa B

NK *:* Doğal öldürücü (natural killer)

NO : Nitrik oksid

NRF2 : Nuclear Factor, Erythroid 2 Like 2

$O2^-$: Süperoksit

OAD : Oral antidiyabetik

OD : Optical density

OGTT : Oral glukoz tolerans testi

ONOO- : Peroksinitrit

ONOOH : Peroksinitroz asit

PAH : Periferik arter hastalığı

PDGF : Trombosit kaynaklı büyüme faktörü

PG : Prostaglandin

PGE2 : Prostaglandin E2

PMNL : Polimorfonükleer lökositler

PVY : Periferik venöz yetmezlik

SDF-1 : Stromal hücre kaynaklı faktör l

SIRS : Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu

SLE : Sistemik lupus eritematozus

TBI : Ayak parmağı/kol basınç indeksi (toe brachial indeks)

TCF7L2 : Transcription factor 7-like 2

TEMD : Türk Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği

TGF-B : Transforming growth factor-β

TIRAP : Toll-interlökin-1 reseptör domain içeren adaptör protein

TLR2 ve TLR9 : Toll benzeri reseptörler -2 ve -9

TNF : Tümör Nekroz Faktörü

TNP : Tek nükleotid polimorfizmi

TURDEP : Türk Diyabet Epidemiyoloji Çalışması

ÜSE : Üriner sistem enfeksiyonları

VAC : Vakum yardımlı kapama

VEGF : Vasküler endotelyal büyüme faktörü

VKİ : Vücut kütle indeksi

WBC **:** Beyaz küre sayısı

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince hoşgörü, emek ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve her zaman biraz daha ileri gidebilmenin mümkün olduğunu ve öğrenmenin ne kadar keyifli olduğunu bana öğreten Sayın Prof. Dr. Mehmet PARLAK, Sayın Prof. Dr. Zülal ÖZKURT, Sayın Prof. Dr. Kemalettin ÖZDEN, Sayın Prof. Dr. Ayşe ALBAYRAK, Sayın Doç. Dr. Emine PARLAK, Sayın Doç. Dr. Fatma KESMEZ CAN ve Sayın Doç. Dr. Handan ALAY' a,

Tezimin hazırlanma sürecinde bilgi ve tecrübeleri ile beni yönlendiren, her konuda desteğini esirgemeyen tez hocam Sayın Doç. Dr. Emine PARLAK' a,

Laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını eksik etmeyen Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı öğretim görevlisi Sayın Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem Yüce Kahraman ve istatistiksel çalışmalarımda yardımlarını eksik etmeyen Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı öğretim görevlisi Dr. Öğr. Üyesi Sinan YILMAZ' a,

Servisimizde birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, tüm hemşire ve personel arkadaşlarıma,

Tüm zamanlarımda hep yanımda olan, beni bugünlere getiren ve bu tezi yazabilecek günlere getiren annem Meryem İNAN, babam Remzi İNAN, kardeşim Mervenur İNAN ve daima yanımda olan sevgili eşim Güneş SARIKAYA' ya sonsuz teşekkür ederim.

Dr.Rukiye İNAN SARIKAYA
Erzurum-2022

ÖZET

Diyabetik Ayak Enfeksiyonu ile IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) Gen Polimorfizmleri Arasındaki İlişkinin İncelenmesi

Amaç: Bu çalışmada IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) sitokin gen polimorfizmlerinin diyabetik ayak enfeksiyonu (DAE) ile arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Bu çalışma Mayıs 2019-Eylül 2020 tarihleri arasında Atatürk Üniversitesine başvuran 18 yaşından büyük hasta ve sağlıklı gönüllü katılımcıların onamları alınarak prospektif olarak yapıldı. Katılımcılar üç gruba ayrıldı; 60 sağlıklı birey kontrol grubu (Grup 1), 60 diyabetik ayak ülseri (DAÜ) olmayan Tip 2 diabetes mellituslu (DM) hasta (Grup 2) ve 87 diyabetik ayak enfeksiyonu ile izlenen Tip 2 DM'li hasta (Grup 3) olmak üzere toplam 207 gönüllü dahil edildi. Katılımcılardan alınan kanlardan DNA izolasyon kiti ile DNA elde edildi. Real –Time PCR ve Taqman prob yöntemiyle elde edilen DNA' lardan IL-6 (-174G>C) ve TNF- α (-238G>A) sitokin gen polimorfizmleri incelendi. Veriler SPSS paket programına kaydedilerek istatistiksel analize tabi tutuldu. İstatistiksel analizde p değeri 0.05'ten daha küçük değerler anlamlı kabul edildi.

Bulgular: IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) gen polimorfizmleri genotip dağılımı Türk popülasyonunda DAE tanısı olan Tip 2 DM'li hastalar, DAÜ tanısı olmayan Tip 2 DM'li hastalar ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi (p>0.05). DAE tanılı hastalarda IL-6 (-174G>C) polimorfizmin GG genotipinde (%53.1), mutant genotiplere (GC+CC) kıyasla (%28.9) önemli ölçüde daha yüksek osteomiyelit sıklığı gözlendi (p=0.024). TNF-α (-238 G>A) GA genotipi olan DAE tanılı hastalarda periferik venöz yetmezlik sıklığı GG genotipi olanlara göre (sırasıyla %80.0, %24.4) istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha yüksek bulundu (p=0.007). TNF-α (-238 G>A) GA genotipi olan DAE tanılı hastalarda vücut kütle indeksi ortalaması GG genotipi olanlara göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha yüksek bulundu (p=0.012).

Sonuç: IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) sitokin gen polimorfizmlerinin Türk popülasyonundaki bir bireyin diyabetik ayak enfeksiyonuna

yatkınlığını tahmin edemeyeceği gösterilmiştir. IL-6 (−174 G>C) polimorfizminin bireyin osteomiyelite yatkınlığını tahmin etmek için potansiyel bir aday genetik belirteç, TNF-α (-238 G>A) polimorfizminin obezite gelişimi için bir risk faktörü olabileceği ortaya çıkmıştır. TNF-α (-238G>A) polimorfizminin periferik venöz yetmezlik patogenezinde önemli bir rol oynayabileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Diyabetik Ayak Enfeksiyonu, Gen, İnterlökin-6, Polimorfizm, Tümör Nekroz Faktörü-alfa

ABSTRACT

Investigation of the Relationship Between Diabetic Foot Infection and IL-6 (-174 G>C) and TNF-α (-238 G>A) Gene Polymorphisms

Background: In this study, it is aimed to investigate the relationship between IL-6 (-174 G>C) and TNF-α (-238 G>A) cytokine gene polymorphisms and diabetic foot infection (DFI).

Methods: This study was carried out prospectively by obtaining the consents of patients and healthy volunteer participants, older than 18 years old, who applied to Atatürk University between May 2019 and September 2020. A total of 207 participants were divided into three groups; 60 of them were healthy individuals control group (Group 1), 60 of them were patients with Type 2 diabetes mellitus (DM) without diabetic foot ulcer (DFU) (Group 2), 87 of them were patients with Type 2 DM followed by DFI (Group 3). DNA was obtained from the blood taken from the participants with the DNA isolation kit. IL-6 (-174G>C) and TNF-α (-238G>A) cytokine gene polymorphisms were examined from DNAs obtained by Real -Time PCR and Taqman probe method. The data were recorded in the SPSS package program and subjected to statistical analysis. P values less than 0.05 were considered significant in statistical analysis.

Results: In Turkish population, the IL-6 (-174 G>C) and the TNF-α (-238 G>A) gene polimorphisms genotype distribution did not differ significantly between Type 2 DM patients with a diagnosis of DFI, patients with Type 2 DM without a diagnosis of DFU and the control group (p>0.05). Significantly higher incidence of osteomyelitis was observed in the GG genotype of IL-6 (-174G>C) polymorphism (53.1%) compared to mutant genotypes (GC + CC) (28.9%) in patients diagnosed with DFI (p=0.024). The frequency of peripheral venous insufficiency was found to be statistically significantly higher in patients with the TNF-α (-238 G> A) GA genotype than those with the GG genotype (respectively 80.0%, 24.4%) (p = 0.007). Mean body mass index was found to be statistically significantly higher in patients diagnosed with DFI, with TNF-α (-238 G> A) GA genotype than those with GG genotype (p = 0.012).

Conclusion: It has been shown that the cytokine gene polymorphisms of IL-6 (-174 G>C) and TNF-α (-238 G>A) cannot predict susceptibility to diabetic foot infection, in the Turkish population. It finds out that the IL-6 (174 G>C) polymorphism is a potential candidate genetic marker to predict susceptibility to osteomyelitis, the TNF-α (-238 G>A) polymorphism may be a risk factor for the development of obesity. It has been shown that TNF-α (-238G>A) polymorphism may play an important role in the pathogenesis of peripheral venous insufficiency.

Keywords: Diabetic Foot Infection, Gene, Interleukin-6, Polymorphism, Tumor Necrosis Factor-alpha

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes mellitus (DM), insülin salgılanmasındaki eksiklik ve insülin etkisinden kaynaklanan hipergliseminin bir sonucu olarak ortaya çıkan bir grup çeşitli metabolik bozukluğun bütünüdür. Diyabetli hasta sayısı gün geçtikçe artmakta olup Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün raporuna göre 422 milyon yetişkini etkilemektedir. 2045 yılına kadar 693 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. Bu nedenle diyabetin kronik komplikasyonlarından olan kardiyovasküler hastalıklar, nefropati, retinopati, nöropati ve diyabetik ayak ülserleri (DAÜ) gibi uzun dönem komplikasyonlara maruz kalan hasta sayısının artması beklenmektedir. Diyabetik hastalarda sık görülen komplikasyonlardan biri olan DAÜ hastanın yaşam kalitesinin bozulmasına, hastanede kalış süresinin artmasına, tedavi maliyetinin yükselmesine, alt ekstremite amputasyonlarına ve mortalite artışına neden olur. Diyabetli dört hastadan birinin hayatlarının bir döneminde kronik ayak yarası geliştireceği tahmin edilmektedir (1).

Diyabetik ayak enfeksiyonu (DAE) nöropati ve/veya iskemi zemininde oluşan travmalara sekonder gelişen tedavisi zor bir hastalıktır. Etiyolojisi multifaktöryel olup hem genetik hem de çevresel faktörleri içerir. Normal bir yara iyileşme süreci, kısa bir inflamatuar fazdan sonra proliferatif faz ve uygun bir zamanda yaranın kapanmasını sağlamak için gerekli olan yeniden yapılanma fazı boyunca ilerler. Tip 2 DM' de görülen bozulmuş bağışıklık, proliferasyonun azalmasına ve yaranın yeniden şekillenmesinin bozulmasına neden olur. Böylece kronik inflamasyon uzun süreli enfeksiyona yol açmaktadır. Bu nedenle DAE'de ağırlığı ve tedavi sonucunu genetik, mikrobiyolojik faktörler ve lokal sitokin yanıtı belirler (2).

DNA düzeyindeki nükleotid farklılıkları DNA polimorfizmi olarak adlandırılır. Genom dizisi içerisindeki bazlardan (Adenin: A, Timin: T, Guanin: G, Sitozin: C) birinin değişmesine ise tek nükleotid polimorfizmi (TNP) denir. Tek nükleotid polimorfizmleri insan DNA varyasyonlarının %90'ından sorumludur. İlaç yanıtındaki farklılık ve hastalık duyarlılığında önemli rol oynamaktadır.

Diyabetik ayak ülseri ve DAE'nin genetiği retinopati ve nefropati ile karşılaştırıldığında yeterince çalışılmamıştır. Diyabetik ayak ülseri ile büyüme faktörlerinin TNP'leri arasında genetik bir ilişki gösterilmiştir. Konakçı genetik faktörler, enfeksiyonlar ve lokal sitokin düzeyleri DAÜ ve DAE' nin şiddetini ve tedavi sonucunu etkilemektedir. Diyabetik ayak ülserinde Neurotensin geni, Matriks metalloproteinaz-9 (MMP9) geni, Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) geni, Transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) geni vb pek çok genin ilişkili olduğu çalışmalar bulunmuştur. Sitokin ve kemokin genlerindeki TNP'ler, yara iyileşmesinin üç aşamasını koordine ettiği için diyabetik ayak ülseri gelişiminde çok önemlidir. Sitokin, kemokin genlerindeki TNP'ler DAÜ'de ciddi enfeksiyon, ülser ve ampütasyon ile ilişkili bulunmuştur. İnterlökin-6 (IL-6) (-174 G>C / rs1800795), Tümör nekroz faktörü (TNF) -α (-308G> A / rs1800629) ve (-238 G> A / rs361525) ve Stromal hücre kaynaklı faktör la (SDF-1) (+ 801G> A / rs1801157) DAÜ ile ilişkili olduğu gösterilen iyi karakterize edilmiş TNP 'lerdir (2).

Çalışmamızda IL-6 (-174 G>C / rs1800795) ve TNF-α (-238 G>A / rs361525) gen polimorfizmlerinin diyabetik ayak enfeksiyonu ile arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmaktadır. Bu sitokinlerin üretimini sağlayan gen bölgesindeki değişimlerin DAE oluşumuna katkısını, şiddetini ve DAE tedavi sonucundaki etkisini belirlemektir. Patogeneze olan katkısı ile bu alanda literatüre yenilik getirmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

2.1.1. Tanım

Diabetes mellitus, insülin salgısındaki defektler nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, kronik hiperglisemik bir metabolizma hastalığıdır. DM sonucunda kronik hiperglisemi, metabolizma bozuklukları, kapiller membran değişiklikleri ve ateroskleroz gelişir. İnsülin ve oral antidiyabetik (OAD) ilaçların kullanılması ile hastaların yaşam süresi uzamış fakat diyabete bağlı gelişen komplikasyonların görülme sıklığı artmıştır (3, 4).

2.1.2. Epidemiyoloji

Dünyadaki DM prevelansı son 20 yıl süresince dramatik bir artış göstermiştir. DM'deki artışın en önemli nedenlerin obezite, sağlıksız beslenme, sedanter yaşam tarzı, düzensiz kentleşme ve yaşam süresinin uzaması olduğu saptanmıştır (5).

2017 yılı Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) 8. Uluslararası Diyabet Atlası raporuna göre yaş aralığı 20-79 arasında değişen 424,9 milyon (%8,8) DM hastası bulunmaktadır. 2045 yılında ise bu sayının 628,6 milyona (%9,9) ulaşacağı tahmin edilmektedir. Aynı raporda 2017 senesinde Türkiye'de 20-79 yaş arasında 6,7 milyon DM hastasının olduğu ve 2045 yılına kadar bu sayının 11,2 milyon olacağı öngörülmektedir (5).

Türkiye' de yapılan ilk diyabet taraması olan ve 1997-1998 yıllarında Türk Diyabet Epidemiyoloji Çalışma Grubu (TURDEP) tarafından 19 yaş ve üstünde 24.788 kişinin katılımıyla yapılan TURDEP- I çalışmasında Tip 2 DM prevalansı %7.2 ve bozulmuş glukoz toleransının (BGT) prevalansı %6.7 olarak bulunmuştur (6). 2010 yılında yapılan TURDEP- II çalışmasında ise ülke genelinde 20 yaş üzerinde 26.499 kişi incelenmiş ve tip 2 DM sıklığının %13.7'ye ve BGT'nin %7.9'a

yükseldiği görülmüştür. TURDEP I ve II çalışmaları kıyaslandığında Türkiye' de DM sıklığı 12 yılda %90 artmıştır (7).

2.1.3. Diabetes Mellitus'un Patogenezisi

Diabetes mellitus etyolojisinde çevresel ve genetik faktörler rol oynamaktadır. Çevresel faktörler arasında fiziksel aktivite yoksunluğu, ilaçlar, toksik ajanlar, obezite ve viral enfeksiyonlar yer almaktadır.

Tip 1 DM, genetik, çevresel ve de otoimmün faktörlerin bir araya gelmesi ile pankreatik beta hücrelerin parçalaması sonucunda insülin yetmezliği ile karakterize bir durumdur. Bazı hastalarda otoimmüniteden bağımsız olarak bilinmeyen mekanizma ile insülin eksikliği bulunmaktadır. Doğum anında normal beta hücrelere sahip olan hastalarda birkaç ay veya yıl sonra ikincil otoimmün saldırılar nedeniyle beta hücrelerinde yıkım meydana gelmektedir. Otoimmün mekanizmalar enfeksiyöz ya da çevresel uyarılar sonucu tetiklenmektedir. Bunun sonucunda beta hücrelerine saldırılar ile bir kısım hastada yavaş bir kısmında ise hızlı seyirde klinik diyabetin oluşumuna neden olmaktadır. Diyabet kliniği beta hücrelerinin %70-80'inin etkilenmesine kadar ortaya çıkmayabilir. Geride kalan pankreas beta hücreleri görevini yapmaya devam etmesine rağmen glukoz metabolizması düzenlenememektedir (8).

Tip 1 DM ile ilişkili birçok gen arasında en önemli rolü 6. kromozomdaki İnsan lökosit antijeni (HLA) geni oynamaktadır. HLA bütün hücrelerin üzerinde bulunan doku antijenleridir ayrıca doku tipini belirler. Klas 1 antijenler HLA-A B C serileridir. Klas II antijenler ise HLA DR, DQ ve DP serileridir. Bazı HLA aileleri arasında rastlantısal olmayan birliktelik vardır. Bu beraberlikle Tip I DM sıklığı arasında ilişki vardır. Tip I DM'li hastalarda %85 HLA DR3 ve/veya HLA DR4 haplotipleri yer alır. Diyabet olmayanlarda bu oran %4'ü geçmez. Diyabet ile en çok ilişkili olanlar DQA1 0301, DQB1 0302, ve DQB1 0201 haplotipleridir. CD4 yardımcı T hücrelerinin pankreas beta hücrelerine saldırmaları için antijen varlığı gereklidir. Bu antijen ise çoğunlukla Majör histokompatibilite kompleksi (MHC) II dir. Normal şartlarda pankreas hücrelerinde bulunmayan, genellikle virüsler

tarafından aktive edilen MHC II antijenini gören CD4'ler aktive olur. Otoimmün olaylar hatalı HLA ekspresyonu ve klas II antijenlerindeki bu değişiklikler sonucunda başlar (9, 10).

Tip 1 DM genetik hastalık değildir ancak kalıtımsal bir hastalık olma şüphesi vardır. Tip 1 ve Tip 2 DM ortaya çıkmasında genetik faktörlerle birlikte çevresel etkenlerin de etkili olduğuna dair tartışmalar vardır. Tek yumurta ikizlerinde yapılan çalışmada, Tip 1 DM'si olan tek yumurta ikizlerinin yaklaşık %50'sinde hastalık uyumu olmasına karşın Tip II de ise ikizlerden diğerinin DM hastası olma olasılığı %100'e yakındır. Yani klasik mendelyen kalıtım şekli Tip I DM hastalarında daha az etkilidir. Çevresel etkenlerin ve MHC'lerinin önemli olduğu ortaya çıkarılmıştır. Tip II DM hastalarında genetik faktörlerin rolü birçok araştırmada gösterilmiştir. Tip II DM ile ilişkili birçok gen bildirilmiş olup 4. kromozomdaki Gc genotip geni, 6.kromozomdaki HLA ve lipoprotein antijen geni, 11. kromozomdaki insülin polimorfizm geni, 16. kromozomdaki haptoglobin geni, 1 ve 12. kromozomlardaki glukoz taşıyıcı genleri bu genler arasında yer almaktadır (8-10).

2.1.4. Sınıflandırma

Amerikan Diyabet Derneği (ADA) 2019 ve Türk Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMD)'nin 2017 yılında güncellenen klavuzlarına göre DM dört kategoride sınıflandırılmaktadır (11, 12).

1. **Tip 1 DM:** Pankreasın insülin salgılayan beta adacık hücrelerinin selektif olarak harap olması sonucunda ortaya çıkan kronik, otoimmün bir hastalıktır. Çocukluk ve adölesan dönemin diyabetidir.

2. **Tip 2 DM:** Pankreas beta hücrelerinden insülin salınımının bozuk olması ya da salınan insüline periferik dokularda direnç gelişmesi nedeniyle oluşur. Genellikle 40 yaş üzerinde ortaya çıkar.

3. **Gestasyonel DM (GDM):** Gebelik sırasında ortaya çıkar ve genellikle doğumla birlikte düzelir.

4. **Diğer spesifik diyabet tipleri:** Bazı ilaç ve hastalıklarda DM'nin gelişmesine sebep olabilir. Bu faktörler 8 ana kategoride gruplandırılmıştır.

- Endokrinopatiler
- β hücre fonksiyonlarının genetik defekti (monogenik diyabet formları)
- Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları
- İnsülinin etkisindeki genetik defektler
- Enfeksiyonlar
- İlaç veya kimyasal ajanlar
- Diyabetle ilişkili genetik sendromlar
- İmmün aracılıklı nadir diyabet formları

2.1.5. Diabetes Mellitus'un Tanısı

Diyabet tanısı koyabilmek için ADA 2019 ve TEMD'nin 2017 yılında güncellenen klavuzlarına göre aşağıdakilerden bir tanesinin bulunması ile diyabet tanısı konulmaktadır (11, 12).

1) 8 saatlik açlık sonrasında açlık kan glukozunun ≥126 mg/dl olması

2) 75 gram oral glukoz tolerans testi (OGTT)'nde 2. saat ölçülen kan glukozunun ≥200 mg/dl olması

3) Klasik diyabet semptomları olan bir kişide rastgele bakılan kan glukozunun ≥200 mg/dl olması

4) HbA1c ≥ % 6.5 olması

2.1.6. Komplikasyonlar

Diyabet hastalarındaki komplikasyonlar, morbidite ve mortalite için en önemli belirleyicilerdir (13). Etkin ve erken tedaviler eşliğinde DM'nin erken ve geç dönem komplikasyonlarından korunma sağlanabilir (12). Kronik hipergliseminin

vücut üzerinde ciddi zararlı etkileri olması sebebiyle DM'de tedavi stratejileri yaşam şekli değişiklikleri ile beraber özellikle Tip 1 DM'de eksik olan insülinin yerine koyulması şeklindenir. Tip 2 DM ve diğer DM tiplerinde ise glukoz dengeleyici ilaçlar ve insülin preparatları ile serum glukoz regulasyonunu sağlamaya yönelik tedaviler yer almaktadır (14).

Diabetes mellitus komplikasyonları akut ve kronik olmak üzere ikiye ayrılır.

Kronik komplikasyonlar: Hipergliseminin vasküler sistemde meydana getirdiği uzun süreli etkilerdir. Bu etkiler mikrovasküler ve makrovasküler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (13).

A) Diabetes Mellitus'un Akut Komplikasyonları

1- Diyabetik Ketoasidoz

2- Hiperosmolar non-ketotik koma

3- Hipoglisemi

4- Laktik asidoz

B) Diabetes Mellitus'un Kronik Komplikasyonları

1-Mikrovasküler komplikasyonlar

- Göz hastalıkları

  Retinopati (nonproliferatif/proliferatif)

  Makuler ödem

- Nefropati

- Nöropati

  Duysal

  Motor

  Otonom

2-Makrovasküler komplikasyonlar

- Koroner arter hastalığı (KAH)

- Periferik arter hastalığı (PAH)

- Serebrovasküler hastalık

3-Diğer komplikasyonlar

- Gastrointestinal (gastroparezi ve ishal)
- Genitoüriner (üropati/seksüel disfonksiyon)
- Dermatolojik
- Enfeksiyonlar
- Katarakt
- Glokom
- Periodontal hastalık
- İşitme kaybı
- Diyabetik ayak ülserleri (13)

Mikrovasküler komplikasyonların gelişiminde en önemli neden damar endotelinde oluşan hasarlanmadır. Endotele glikoz girişi insüline bağlı değildir. Hiperglisemi nedeniyle endotele glikoz girişi artar. Hücrenin protein yapıları glikozillenme ile zarar görür. Böylece bazal membran kalınlaşır ve fonksiyonunu kaybeder. Bu uzun süreç sonunda çok sayıda hedef organ hasarı gözlenir (15).

2.2. Diyabet ve Enfeksiyon

Enfeksiyonlar diyabetli hastalarda daha yaygındır ve kötü prognozla seyreder. Diyabetik hastalar enfeksiyon anında daha fazla akut metabolik dekompansasyon riskine sahiptir. Metabolik dekompansasyon olan DM hastalarında ise invaziv enfeksiyon gelişme riski artar. Enfeksiyon gelişimiyle hastanelerde yatış süresinde uzama ve maliyetlerde artış olmaktadır (16).

Diyabetik hastalarda hücresel ve hümoral immün yanıtta meydana gelen değişiklikler nedeniyle enfeksiyonlara yatkınlık artmıştır. Diyabet hastalarında insülin ve antibiyotik kullanımından önce, enfeksiyonlar mortalite ve morbiditenin en önemli nedeni idi. Diyabet hastalarının 1920'li yıllarda %20' si, 1960'lı yıllarda %5'i enfeksiyonlar nedeni ile ölmekteydi. Antibiyotiklerin kullanıma girmesi ile diyabette enfeksiyona bağlı mortalite azalmıştır. Fakat anjiyopati ile nöropatisi olan hastalarda enfeksiyona bağlı morbidite hala yüksek seyretmektedir (17).

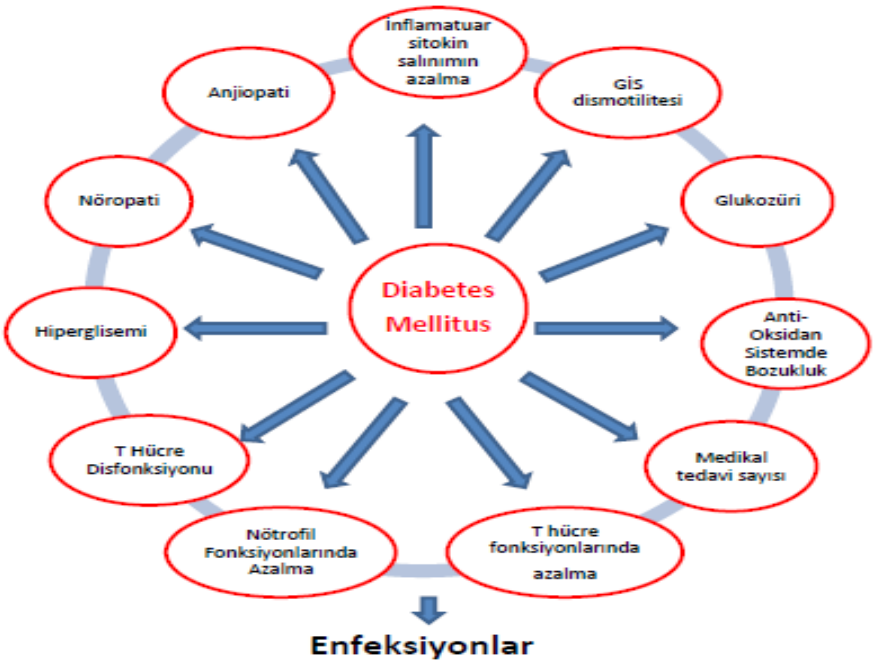
Bir kohort çalışmasında Tip 2 DM olan hastalar ile diyabeti olmayan hastalar karşılaştırıldığında diyabetlilerde toplum kökenli enfeksiyonlar nedeni ile reçete edilen antibiyotik sayısı ve hastanede yatırılarak tedavi edilmesi gereken enfeksiyonlar daha yüksek oranda saptanmıştır (18).

Diyabet hastalarında enfeksiyona eğilime sebep olduğu düşünülen konağa özgü etkenler:

- Hiperglisemiye bağlı immün cevapta bozulma
- Mikro ve makro vaskülopatiler
- Medikal girişim sayısındaki artış
- Glukozüri
- Duyusal periferik nöropati,
- Otonom nöropati,
- Cilt ve mukoza kolonizasyonunda artışın varlığıdır (17, 19, 20).

Mikroorganizmaya ait etkenler:

- Glukoz-indüklenebilir proteinlerin oral ve vajinal epitele adhezyonunun uyarılması nedeni ile *Candida albicans (C.albicans)* daha sıktır.
- Keton redüktaz enzim aktivitesi ile ketoasidoz oluşumu nedeni ile *Rhizopus* daha sıktır.
- Makrofaj öldürme kapasitesine olumsuz etki nedeniyle *Burkholderia pseudomallei (B.pseudomallei)* sıklığı artmıştır (19).



Şekil 1. Diabetes Mellitus'da Enfeksiyon Patogenezi (21)

Diyabet polimorfonükleer lökositler (PMNL), lenfositler, monosit-makrofaj sistemi ile komplemanlarda bozulmaya neden olmaktadır.

Polimorfonükleer lökosit transmigrasyonu, kemotaksisi ve fagositoz fonksiyonları DM hastalarında bozulmuştur. Transmigrasyon ileri glikozilasyon son ürünlerinin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak, kemotaksis ise kapiler bazal membranda kalınlaşma sebebi ile bozulmuştur. Lökositlerin bakteri invazyonu olan bölgeye yönelmesi ve bu bölgeye ulaşabilen lökositlere yeterli glukoz ve insülin sağlanması kapiler bazal membranda kalınlaşma ile engellenir. Bu nedenle diyabetik hastalarda daha fazla deri enfeksiyonu görülür (17, 20).

Diyabetik hastalarda PMNL fonksiyon bozukluğunun en önemli göstergesi mikrobiyal savunma sistemi ile ilgilidir. Mikroorganizmaların öldürülmesi oksidatif ve non-oksidatif mekanizmaların integrasyonuna bağlı olarak gerçekleşir. Bakterilerin öldürülmesine superoksid ajanlar ve üretilen diğer oksijen metabolitleri yardımcı olmaktadır. Diyabetik hastalarda oksidatif solunum bozulur. Artan glisemik olaya (özellikle glukoz 12 mmol/L'nin üzerinde iken) paralel olarak superoksit üretiminde azalma gözlenir. Diyabetiklerde fagositlere daha çok glukoz girişi olur ve

poliyol yolağı ile metabolize edilir. Bu süreç aldoz redüktaz ile sınırlanır ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH)'a ihtiyaç duyar. Poliyol yolağında metabolik aktivite arttığında NADPH gereksinimi artar ve intrasellüler öldürme için gerekli olan NADPH azaldığı için öldürme fonksiyonunda azalma gözlenir (17).

Çalışmalar incelendiğinde metabolik kontrolü iyi yapılan DM hastalarında, uygun insülin tedavisi ile PMNL kemotaksisi, transmigrasyonu ve fagositoz fonsiyonları düzelmektedir (17).

Tip 1 DM'de azalmış CD4 T lenfosit yanıtı görülmesine rağmen yakın kan şekeri kontrolü ile CD4 T lenfosit yanıtında düzelme gözlenmiştir. Hümoral yanıtta glikozilasyonun antikorların biyolojik fonksiyonunu bozabileceği düşünülmesine rağmen diyabetik hastalarda IgA sekresyonu yeterli bulunmuştur. Diyabetli hastalarda influenza, pnömokok ve Hepatit B aşılaması sonrasında ölçülen antikor yanıtları koruyucu seviyede tespit edilmiştir (17, 20).

Diyabetli hastalarda sık görülen vasküler yetmezlik lökositlerin oksijene bağımlı bakterisidal fonksiyonlarını bozarken mikroaerofilik ve anaerobik mikroorganizmaların çoğalmasını artıran lokal doku iskemisine neden olur. Lokal inflamatuar yanıt ile antibiyotik emiliminde azalma gözlenir. Duysal periferik nöropati diyabetik ayak enfeksiyonlarına zemin hazırlar (17).

Diyabetli hastalarda üriner sistem, solunum sistemi ve yumuşak doku enfeksiyonları daha sık ve ciddi seyirli görülür (17, 22, 23).

Diyabete bağlı gelişen otonom nöropati sebebiyle mesanede rezidü idrar kalması ve enstrümentasyon oranlarının artması diyabetli hastalarda üriner sistem enfeksiyonlarında (ÜSE) artışa neden olur. Glukozüri bakteriyel çoğalmayı artırarak ve fagositozu engelleyerek ÜSE' ye sebep olmaktadır (17, 20).

Üriner sistem enfeksiyou riski diyabeti olan kadın hastalarda artarken, erkek hastalarda risk diyabeti olmayan kişilerle benzerdir. Fakat Tip 1 DM olan erkeklerde Tip 2 DM'ye göre, daha sık ÜSE saptanır. Bu hastalarda prostatit de sık görülür. DM

hastalarında en sık görülen ÜSE asemptomatik bakteriüridir ve antibiyotik kullanma endikasyonu yoktur. Akut piyelonefritin komplikasyonları olan amfizematöz piyelonefrit, bilateral böbrek tutulumu, intrarenal apse diyabette daha sıktır ve kötü prognozla seyreder. Diyabetik hastaların idrarındaki pH değişimi sebebiyle *Candida albicans*'ın üriner sistemdeki kolonizasyonu artar (17, 20, 22, 24).

Diyabetik hastalarda solunum sistemi enfeksiyonları daha sıktır. Diyabeti olan toplum kökenli pnömoni hastalarını diyabeti olmayan hastalarla karşılaştırıldığında *Staphylococcus aureus(S.aureus)* ve *Klebsiella pneumoniae(K.pneumoniae)* gibi bakteriyel enfeksiyon sıklığı artmaktadır. Bunun nedeni ise gram negatif bakterilerin faringeal taşıyıcılıklarının artması ve cilt ile burun stafilokok taşıyıcılığının DM'de daha yaygın olmasıdır. Diyabetik hastalarda gastroparezi nedeni ile aspirasyon pnömonisi riski de vardır. Diyabet influenza salgınında morbidite ve mortaliteyi, hastane yatışını ve sekonder stafilokok pnömoni riskini artırır. Akciğer tüberkülozun DM'li hastalarda 11 kat fazla görüldüğü saptanmıştır. Tüberküloz gelişen diyabet hastalarında plevral efüzyon, atipik lokalizasyon ve multilober tutulum daha fazla izlenir. Diyabetik tüberkülozlu hastalarda izoniyazid tedavisi alırken var olan periferal nöropatinin kötüleşmemesi için pridoksin takviyesi yapılmalıdır (17, 20).

Diyabetik hastalarda Hepatit B ve Hepatit C daha sık gözlenmektedir. Akut hepatit B'nin ise kötü prognozlu seyrettiği saptanmıştır (22).

Artmış tükrük glukozu, mikroanjiyopati, bozulmuş kollajen metabolizması ve tükrük pH'nın düşük olması gibi nedenlerden dolayı diyabette periodontal enfeksiyonların sıklığı artar (17, 20, 23).

Malign otitits externa, rinoserabral mukormikoz, amfizematöz kolesistit, nekrotizan fasiit gibi toplumda nadir görülen enfeksiyonlar diyabetli hastalarda sık gözlenir (17, 20, 23). Diyabetli hastalarda onikomikoz riski artar (17).

Diabetes mellitus'da sık görülen enfeksiyonlar ve etkenleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

Diyabetik hastalarda yumuşak doku enfeksiyonları sık görülür. Periferik nöropatisi olan hastalarda ağrı duymamaları nedeni ile DAE sıktır. Şiddetli bir ayak enfeksiyonunda ateş ve lökositoz gibi sistemik bulguların olmaması sebebiyle diyabetik ayak enfeksiyonları geç tanı alır. İlerleyen zamanda osteomiyelit ve amputasyona giden süreç oluşabilir (17).

Tablo 1. Diabetes Mellitus Hastalarında Sık Karşılaşılan Enfeksiyonlar ve Etkenleri (17, 23)

	Enfeksiyonlar	**Patojenler**
Solunum Sistemi	Toplum kökenli pnömoni	*Streptococcus pneumoniae (S.pneumoniae)* *Lejyonella, S. aureus* *K. pneumoniae*
	Tüberküloz	*Mycobacterium tuberculosis*
Genitoüriner sistem	Perinefritik apse	*Escherichia coli (E. coli)* *Enterobacter aerogenes (E.aerogenes)*
	Bakteriyel sistit	*E. coli* *Acinetobacter spp.* Grup B streptokok *Pseudomonas aeruginosa (P.aeruginosa)*
	Amfizematöz sistit ve pyelonefrit	*E. coli* *Enterobacter spp.* *Proteus, Klebsiella*
	Fungal sistit	*Candida spp.*
Gastrointestinal Sistem	Oral ve özefageal candidiazis	*Candida spp.*
	Amfizematöz kolesistit	*Clostridium perfringens (C.perfringens)* *E. coli, Bacteroides fragilis (B.fragilis)*
	Karaciğer apsesi	*Klebsiella pneumoniae*
	H. pylori enfeksiyonları	*Helicobacter pylori*
Cilt ve Yumuşak Doku	Folikülit	Grup A streptokok, *S. aureus*
	Fronkül ve selülit	*S. aureus, Streptococcus pyogenes (S.pyogenes),* gram negatif aerob ve anaeroblar
	Nekrotizan fasit	*Streptokok spp* *Enterobacteriaceae* *Clostridium spp.*
Diğer	Malign otitis externa	*P. aeruginosa* Aspergillus spp.
	İnvaziv rinoserebral mukormikoz	Mucor türleri

2.3. Diyabetik Ayak Ülseri ve Diyabetik Ayak Enfeksiyonu

2.3.1. Tanımı

Diyabetik ayak ülseri (DAÜ), DM hastalarında kan şekeri regülasyonu bozukluğuna bağlı olarak gelişen nöropati ile periferik anjiyopati sonucu meydana gelen ülserler olarak tanımlanır (25, 26).

Diyabetik ayak enfeksiyonu (DAE) ise DM hastalarında genellikle doku destrüksiyonuna neden olan konak inflamatuar yanıtını indükleyen yumuşak doku veya kemikte mikroorganizmaların çoğalması ve invazyonu olarak tanımlanır (27).

Diabetes mellitus ağır klinik seyir gösterebilen metabolik bir sendromdur. Diyabetin mikrovasküler bir komplikasyonu olan nöropati ve iskemi zeminine, aşırı basınç yükü ve enfeksiyonun da eklenmesiyle DAE oluşur (28).

2.3.2. Epidemiyoloji

Diyabetik ayak ülseri, diyabetli hastalarda %15 oranında görülebilen, %7-20 oranında ampütasyona neden olabilen bedensel, sosyal ve ekonomik etkileri olan bir durumdur. Morbidite ile mortalitesi yüksek bir komplikasyondur (28).

Diyabetik ayak enfeksiyonları diyabet hastaları arasında hastane yatışlarının en önemli nedeni (%20-25) haline gelmiştir. Travma dışı ekstremite amputasyonların % 50' si DAE nedeniyle olmaktadır. Amputasyonların % 21'i diz üstü, % 24'ü topuk, % 39'u diz altı, % 6'sı orta ayak şeklindedir (29).

Yapılan bir meta-analizde diyabetik ayak ülser prevalansının tüm dünyada %6.3 olduğu bildirilmiştir. Tip 2 DM hastalarında prevalans %6.4, Tip 1 DM tanılı hastalarında ise %5.5 olarak bulunmuştur. Türkiye'deki prevalansın %3.1 olduğu, erkeklerde %4.5, kadınlarda ise %3.5 olduğu saptanmıştır. Diyabetik ayak ülserinin yıllık insidansı ise %2-5 arasındadır ve ömür boyu görülme riski %15-25 arasındadır (30, 31).

Diyabetik hastalarda her 30 saniyede bir alt ekstremite ampütasyonu yapılmaktadır (32). İlk diyabetik ayak ülserinden bir yıl sonra amputasyon olasılığı %34.1, mortalite oranı ise %5.5 olarak gözlenmiştir (33).

Diyabetik ayak ülseri olan hastaların olmayanlara göre makrovasküler ile mikrovasküler komplikasyonların, sigara içme oranın ve yaş ortalamasının daha fazla olduğu gösterilmiştir (34).

Diyabetik ayak enfeksiyonu tedavisi için maliyet yüksektir. Diabetes mellitus ve komplikasyonlarının tedavisi için yapılan toplam harcamaların yaklaşık %33'ü bu hastaların tedavisi için yapılmaktadır (35).

2.3.3. Patogenez

Diyabetik ayak ülseri gelişmesinin temel patogenezi hiperglisemi nedeni ile oluşan nöropati ve vaskülopatidir. Diyabetik ayak ülserleri iskemik (%15), nöropatik (%35) veya nöroiskemik (%50) olabilirler (36).

1. Nöropati: En sık görülen geç dönem diyabet komplikasyonudur. Ayak ülserlerinin başlıca sebeplerinden biri diyabette görülen periferik nöropatidir. Diyabetli hastaların üçte ikisinde alt ekstremitede periferik nöropati vardır. Genellikle simetrik, kronik ve distal yerleşimli olup alt extremitelerde belirgindir ve çorap şeklinde tutulum izlenir (37, 38).

Diyabetik nöropati gelişimine neden olan risk faktörleri ise Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Diyabetik Nöropati Risk Faktörleri (39)

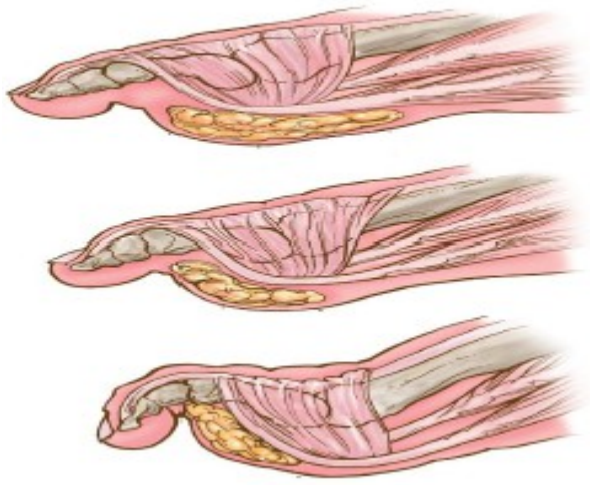
Değiştirilemez Risk Faktörleri	**Değiştirilebilir Risk Faktörleri**
İleri yaş	Hiperglisemi
Uzun süreli diyabet varlığı	Hipertansiyon (HT)
HLA DR 3 ve 4 genotipi	Yüksek kolesterol seviyesi
Uzun boylu olmak	Sigara kullanımı
	Alkol kullanımı

Diyabetik hastalarda nöropati motor, duysal ve otonom nöropati olmak üzere üç farklı şekilde gözlenir. Motor nöropati ile motor sinirlerde meydana gelen hasar sonucunda ayağın intrensek kaslarında muskuler atrofi gelişir. Kas dağılımındaki anormallikler çeşitli deformitelere yol açabilir. Ayak fleksor kasları ekstansor kaslara kıyasla orantısız şekilde zayıflar ve ayak parmaklarında pençe deformitesine neden olur (Şekil 2). Kaslardaki değişim nedeniyle yağ doku ayak metatars başlarından çekilir ve basınç geniş bir tabana dağılmayıp yağ dokusu olmayan metatars başlarının

altında dar bir noktada toplanır. Metatars başlarının plantar yüzeyi, parmak uçları ve parmak eklemi bu yaygın deformite ile artmış ülserasyon riski taşır (39).

Diyabetik ayak (DA) hastalığında yaygın görülen deformiteler;

- Çekiç parmak
- Pençe parmak
- Halluks valgus
- Bunion: Birinci metatars başının medialinde oluşan ağrı ve şişlik
- Tailor's bunion (bunionet): Beşinci metatars başında ağrılı şişlik ve çıkıntı oluşumu
- Ön bölüm varus veya valgusu
- Birinci parmak plantar fleksiyonu ile dorsifleksiyonu
- Arka bölüm varus veya valgusu
- Ekin
- Charcot ayağı
- Geçirilmiş ampütasyonlar sonucu ortaya çıkan değişikliklerdir (40).



Şekil 2. Ayak Pençe Deformitesi (39)

Duysal nöropati nedeniyle ağrı duyusunda kayıp meydana gelir. Ayakkabıların bası yapması, ısıya maruz kalma, yabancı maddelere bağlı yaralanmalar ağrı duyusundaki azalmadan dolayı hissedilmediğinden cilt bütünlüğü bozulur ve ülserler meydana gelir.

Otonom nöropati ile ayaktaki yağ ve ter bezlerinin fonksiyonu bozulur. Böylece cildin kurumasına ve ciltte çatlaklar oluşmasına neden olur. Ayağın doğal nemlendirme yeteneği kaybolur, üstteki deri enfeksiyon gelişimine karşı savunmasız kalır (38).

2. Periferik vasküler hastalık: Alt ekstremitenin aterosklerotik tıkayıcı bir hastalığıdır. Diyabetli hastalarda kapiler bazal membranda kalınlaşma, arteriyoler hyalinoz ve endotel proliferasyonu sonucunda meydana gelen ateroskleroz büyük ve orta damarları tutar. Femoropopliteal ve aortailiak arterlerin aterosklerotik tıkanması akut ve kronik iskemiye sebep olur. Dijital arterlerin de tıkanmasıyla gangrene kadar ilerleyebilir. Diyabetik hastalarda yetersiz kan akımı sebebiyle oluşan periferal iskemi, hastaların %35'inde ülserasyona sebep olur (37, 38).

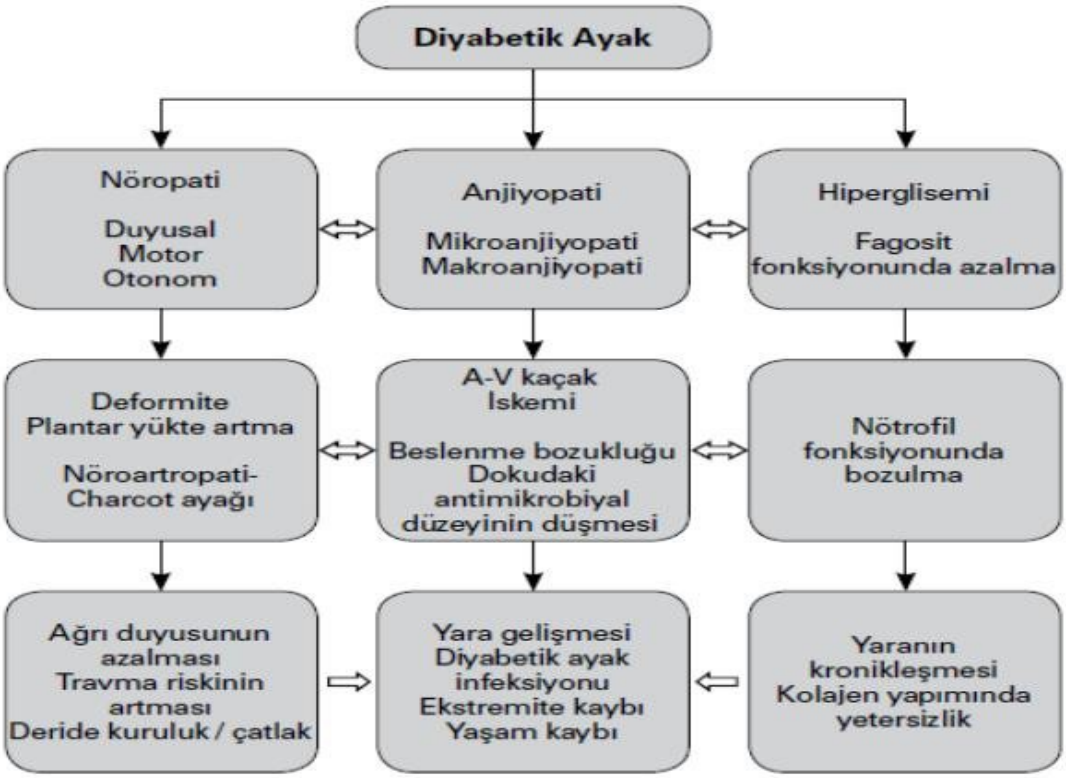
3. İmmün sistemde bozukluk: Diyabette nötrofillerin kemotaksis ve fagositoz yeteneğinin bozulmasına bağlı olarak enfeksiyonlara karşı düşük düzey inflamatuar yanıt ortaya çıkar. Diyabetik ayak ülser yüzeyinde kolonize olan bakteriler biyofilm ve proteaz aktivitesi ile yara yüzeyinin kapanmasını sağlayacak doku faktörlerinin parçalanmasına neden olurlar. Diyabetiklerde doku onarımı proteaz aktivitesi nedeniyle yavaştır ve oluşan yaralar kronik olmaya eğilim gösterir (36).

Diyabetik ayak ülseri ve DAE gelişimindeki risk faktörleri Tablo 3' te gösterilmiştir (41).

Tablo 3. Diyabetik Ayak Enfeksiyonu Gelişimindeki Risk Faktörleri (41)

Risk Faktörü	**Yaralanma ve bozulmanın mekanizması**
Periferal motor nöropati	Bozulmuş ayak anatomisi ve mekaniği (Artan basınç, kallus oluşması ve ülserlere neden olan başparmak pençeleşmesi, yüksek

	ayak arkı, sublukse metatarsofalengeal eklemler)
Periferal duyusal nöropati	Koruma duyusunun kaybı (Artan basınç, mekanik ve termal yaralanmanın neden olduğu minor yaralanmalar sonucu oluşur)
Periferal otonomik nöropati	Terleme bozukluğuna bağlı kuru ve ayrılan cilt
Nöro-osteoartropatik deformiteler	Anormal anatomi ve biyomekanik (özellikle orta plantar bölgeye olan aşırı basınç sonucu)
Vasküler (arteriyel) yetmezlik	Bozulmuş doku beslenmesi, yara iyileşmesi ve nötrofillerin dağılımı
Hiperglisemi ve diğer metabolik bozukluklar	Bozulmuş immünolojik (özellikle nötrofil) fonksiyonu ve yara iyileşmesi, aşırı kollojen çapraz bağlanması
Hasta ait özellikler	Görme problemi, harekette kısıtlılık ve önceki amputasyonlar
Hasta uyumunda sıkıntılar	Temizlik kurallarında aksaklık, medikal tedavilere zayıf uyum, uygunsuz aktiviteler, ağır giyimler ve uygunsuz ayakkabı tercihi
Sağlık sisteminde aksaklık	Hasta eğitiminin eksikliği, kan şekeri regülasyonunda aksaklık ve ayak bakımında yetersizlik



Şekil 3. Diyabetik Ayak Patogenezi (37)

2.3.4. Metabolik ve İmmünolojik Patogenez

Sağlıklı kişide yara iyileşmesi doku bütünlüğünün bozulmasının ardından gelişen dinamik bir süreçtir. Yara iyileşmesi birbirini izleyen dört aşamadan oluşur. Birincisi, hemostaz fazıdır. Bu fazda dolaşımdaki trombositler yaralanmanın olduğu dokuya doğru aktive olarak agregasyon ve adhezyon yapar. Pıhtılaşma işleminde fibrinojen fibrine dönüşür. Trombin oluşumu ile ekstraselüler boşluk yapımı başlar. Uyarılmış trombositler nötrofil ve monositlerin kemotaksis ve adherensi için Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve Transforming growth factor-β (TGF-B) gibi büyüme faktörleri salgılar. İkinci faz inflamasyon fazıdır. İnflamatuvar hücrelerin yara alanına gelmesi ile bu faz başlar. Damar endotelyumundan salınan adhezyon molekülleri ilk olarak alana nötrofilleri çeker. Rüptüre kapillerden yara alanına salınan nötrofiller infeksiyon kontrolünde ana rol oynar. Nötrofillerden sonra olgun monositler makrofajlara dönüşüp yaralanma alanına gelerek bakteri, yabancı cisimleri, apopitotik nötrofilleri ve hasarlanmış doku parçalarını ortamdan uzaklaştırır. Ayrıca bu hücreler ortama birçok proinflamatuvar medyator ve sitokin salgılar. Mast hücreleri ortama sitokinler salgılayarak yara iyileşmesinde görev alır. T hücreleri de geç inflamasyon aşamasında ortama gelerek dokunun yeniden yapımında çalışır. Üçüncü faz yaranın yeniden oluşmaya başladığı proliferatif fazdır. İnflamasyon çözüldükten ve makrofajlar antiinflamatuvar tipe dönüştükten sonra yara proliferatif aşamaya geçer. Antiinflamatuvar makrofajlar proteaz ve proteaz inhibitörleri, VEGF ve TGF-B gibi büyüme faktörleri salgılar. Bunlar hücre çoğalması ile protein sentezini uyarır böylece yara boşluğu granülasyon dokusuyla dolmaya başlar. Fibroblastlar çoğalarak yeni damar oluşumunu da başlatır. Aynı zamanda hızla çoğalan hücrelere oksijen ve besin getirmede görev alır. Keratinosit büyüme faktörü, VEGF ile Fibroblast growth factor-2 (FGF-2) yaralanan epidermisten salgılanarak epitelyal çoğalmaya destek olur. Yara iyileşmesinin son aşaması yani dördüncü faz ise yeniden oluşum (Remodelling) fazıdır. İki veya üç haftadan sonra başlar. Kan damarlarının yoğunluğu azalarak kollojen dokusu yeniden oluşur ve organize olur. Matrix metelloproteinazlar (MMPs) aktivitesi ile yeni kollojen sentezi ve kollojen yıkımı arasında denge ile kollojen düzgün bir şekilde yapılanır (42).

Diyabetik yaraların iyileşme sürecinde çeşitli faktörlerden dolayı aksaklıklar meydan gelir (43). Diyabetik bir hastada iyileşemeyen açık bir yara 12 hafta içinde iyileşmezse kronik yara olarak sınıflandırılır. Çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler, proteazlar, hücre içi ve hücre dışı yapı elemanları yara iyileşmesinde önemli rol oynar (42). Diyabet, yara iyileşmesinde rol oynayan sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınımını etkiler (44).

Hiperglisemi, hücrelerde reaktif oksijen radikallerinin oluşumuna ve lenfosit apoptozunda artışa neden olmaktadır (45). Diyabetik hastalarda hiperglisemi, kronik inflamasyon, hipoksi, mikro ve makro dolaşım bozuklukları, otonomik ve duyusal nöropati ve nöropeptid sinyal hasarı ile yukarıda bahsedilen fizyolojik aşamaları yok eder (42).

Epidermal katmanın yeniden epitelizasyonu ve onarımı yara iyileşmesinde çok önemlidir. Keratinositlerin göçü ve çoğalması reepitelizasyon için önemli adımlardandır. Diyabetik hastalarda hiperglisemi keratinositlerin göçünü ve çoğalmasını azaltarak yetersiz reepitelizasyona sebep olmaktadır (46).

Diyabetin immün sistemde yapmış olduğu değişiklikler uzun süreli enfeksiyonlara ve kronik inflamasyona yol açmaktadır. Bu da proliferasyonda azalma ile remodelling fazında aksamalara neden olmaktadır (2).

Diyabetik ayakta kronik düşük seviyede inflamasyon durumu ve uzamış inflamatuvar yanıt ile yara kapanmasında aksaklıklara sebep olur. Uzamış inflamatuvar aşama ile proinflamatuvar sitokinlerde (İnterlökin-1 (IL-1), IL-6 ve TNF-α) artış gözlenir. Bununla birlikte iyileşmeyen yaralarda nötrofil ve makrofajlardan reaktif oksijen türleri ve proteazlar oluşur. Hipoksi, nitrik oksid (NO) sentezini arttırır. Asidoz ve vazodilatasyona neden olur. Ortamdaki süperoksitler (O_2^-) ve NO temizleme, anjiogenez ve proliferasyonla etkisini gösterir. Fakat yaradaki uzamış O_2^- üretimi yara iyileşmesinde yüksek reaktif ve hasar verici radikaller olan peroksinitrit (ONOO-) ile peroksinitroz asit (ONOOH) gibi ürünlerin artışına yol açar (47).

Diyabetik hastalardaki yara iyileşmesindeki aksaklıklardan bir başka etken ise fibroblastların proliferasyonunda ve migrasyon fonksiyonunda azalma ve apopitozunda ise artış olmasıdır. Keratinositlerde artmış proliferasyona rağmen azalmış başkalaşım nedeniyle yara iyileşmesinde gecikme gözlenir.

Hiperglisemi ve kronik inflamasyon yeni damar oluşumunda aksaklığa sebep olur. Mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar zayıf doku perfüzyonuna neden olarak yara iyileşmesine olumsuz etki eder (48).

2.3.5. Diyabetik Ayak ve Genetik

Diyabetik ayak ülserlerinin etyopatogenezinde tek nükleotid polimorfizmleri ve epigenetik mekanizmalar da rol oynamaktadır. Tek nükleotid polimorfizmleri diyabetik ayak ülserlerinin iyileşmesinde büyüme faktörleri ve sitokinler üzerinde önemli bir göreve sahiptir (1). Tip 2 DM'nin diğer komplikasyonları ile kıyaslandığında diyabetik ayak ülserlerinin genetiği ile ilgili daha az sayıda çalışma yapılmıştır (49).

Yara iyileşmesi sürecinde rol alan sitokin ve kemokin genlerindeki çeşitli TNP' ler yara iyileşmesinin aşamalarını etkilemektedir (2).

Çalışmalar incelendiğinde yara iyileşme sürecinde önemli rol oynayan MMP-9, VEGF, IL-6, TNF-α ve SDF-1 genlerindeki çeşitli polimorfizmler ile diyabetik ayak ülseri arasında ilişki olduğu saptanmıştır (50-54).

Matriks metalloproteinaz-9 genindeki bir TNP'nin (-1562 C>T, rs3918242) Tip 2 DM ve diyabetik ayak ülseri ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir (50). Matriks metalloproteinaz-9 c.1562 C>T gen polimorfizminin artmış plazma MMP-9 seviyesi ile ilişkisi olduğu ve diyabetik makroanjiopatide prediktif bir marker olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (51).

Vasküler endotelyal büyüme faktörü genindeki TNP' lerle (-7*C/T, -2578*C/A) yapılan bir çalışmada A aleli taşıyanlarda diyabetik ayak ülseri

sıklığının daha az olduğu gösterilmiştir. Bu koruyucu etki artmış anjiogenez ile ilişkilendirilmiştir (52). Başka bir çalışmada VEGF genindeki rs699947 polimorfizminin diyabetik ayak ülseri görülmesi ile anlamlı ilişkisinin olduğu gösterilmiştir (53).

İnterlökin-6 (rs1800795), TNF-α (rs1800629), SDF-1 (rs1801157) genlerindeki TNP'ler ile diyabetik ayak ülseri arasında kuvvetli bir ilişki olduğu gösterilmiştir (54).

Diyabetik ayak ülserlerinde TNP' lerin ülser derecesini, enfeksiyonu ve amputasyonu da etkiledikleri gösterilmiştir. Bir çalışmada IL-6 (−174 G>C), TNF-α (−174 G>C) ve SDF-1 (+801G>A) genlerindeki TNP' lerin ciddi enfeksiyon için risk faktörü oldukları gösterilmiştir. Tümör nekroz faktörü-α (−174 G>C) ve (−238 G>A) polimorfizmleri ülser evresi için, SDF-1 genindeki (+801 G>A) bir polimorfizm ise amputasyon için majör risk faktörü olarak bulunmuştur (2).

2.3.6. Diyabetik Ayak Yarası ve Enfeksiyonlarında Sınıflandırılma

Diyabetik ayak enfeksiyonlarının uygun tedavi ve takibinin yapılabilmesi için, tanımlayıcı, multidisipliner yaklaşıma elverişli sınıflandırmaların olması gerekir. Diyabetik ayak ülserleri için birçok sınıflandırma sistemi vardır. Bunlardan Wagner, SINBAD, Texas gibi sınıflandırmaların her birinin farklı amaçları vardır. Bazı sınıflamalar enfeksiyonu sadece varlığı veya yokluğu olarak tanımlarken, bazıları enfeksiyona daha ayrıntılı yer verir. Bir diyabetik ayak yarasını sınıflandırırken yaranın derinliği, enfeksiyonun varlığı, kemik tutulumu ile iskemi varlığının belirlenmesi önemlidir (25, 37).

a) **PEDIS sınıflaması**

Bu sınıflamalardan diyabete bağlı ayak komplikasyonları için yüksek prediktif değere sahip olan PEDİS sınıflaması yaygın olarak kullanılmaktadır (37). International Working Group of Diabetic Foot (IWGDF) diyabetik ayak yaralarını sınıflandırmak için perfüzyon, boyut, doku kaybı, enfeksiyon, nöropati anlamına

gelen PEDIS sınıflamasını tanımlamıştır. PEDIS sınıflandırması Tablo 4'te gösterilmiştir (55).

Tablo 4. PEDİS Sınıflaması (55)

A. Doku beslenmesi (Perfusion): **Evre 1**: Etkilenen ayakta periferik arter hastalığı belirti ve bulgularının olmaması ve bununla beraber, Palpabl dorsopedal ve posterior tibial arter veya Ayak bileği/kol basınç indeksi (ankle-brachial indeks- ABI): 0.9-1.1 veya ayak parmağı/kol basınç indeksi (toe brachial indeks-TBI): < 0.6 veya Transkutanöz O_2 basıncı >60 mmHg olması **Evre 2**: Periferik arter hastalığı belirti ve bulgularının olması ancak bacakta ciddi iskemi olmayıp aralıklı kladikasyo var. Ek olarak; ABI <0.9 fakat sistolik ayak bileği basıncı >50 mmHg veya TBI: >0.6 fakat sistolik ayak parmağı basıncı >30 mmHg veya Transkutanöz O_2 basıncı 30-60 mmHg veya invaziv olmayan testlerde PAH ile uyumlu diğer anomaliler **Evre 3:** Ciddi iskemi varlığı; Sistolik ayak bileği basıncı <50 mmHg veya Sistolik ayak parmağı basıncı <30 mmHg veya Trankutanöz O_2 basıncı <30 mmHg
B. Yaygınlık/büyüklük (Extent/size): Eğer olanaklı ise debridman sonrası yara boyutları cm^2 olarak belirlenmelidir. Ülserin dış sınırları ülseri çevreleyen sağlam deriden itibaren ölçülmelidir
C. Derinlik/doku kaybı (Depth/tissue loss): **Evre 1**: Yüzeyel tam kat ülser, dermisten daha derin dokulara penetre olmamış. **Evre 2**: Derin ülser, dermisin altında, subkutan yapılara penetre olmuş, fasia, kas veya tendon tutulumu var. **Evre 3**:"Probing to bone" (kemik sondajı) yöntemi veya direkt bakı ile kemik ve eklemi de içerecek şekilde ayağın bütün katlarının tutulduğunun belirlenmesi
D. Enfeksiyon (Infection): **Evre 1**: Enfeksiyon belirti ve bulgularının olmaması **Evre 2**: Enfeksiyon sadece deri ve derialtı dokuları tutmuş (derin doku tutulumu veya sistemik bulgular yok), lokal şişlik ve endürasyon, ülser etrafında 0.5-2 cm eritem, lokal hassasiyet veya ağrı, lokal sıcaklık artışı, pürülan akıntıdan en az ikisi mevcut **Evre 3**: >2 cm eritem ve yukarda sayılan belirtilerden en az birisinin olması veya sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS) belirtileri olmadan infeksiyonun ciltten daha derin yapıları tutması (apse, osteomiyelit, septik artrit, fasiit gibi) **Evre 4**: SIRS belirtilerinden en az 2 veya daha fazla olması
E. Duyu (Sensation): **Evre 1**: Etkilenen ayakta duyu kaybı yok. **Evre 2**: Etkilenen ayakta duyu kaybı var (ayağın plantar yüzeyinde üç bölgenin en az ikisinde 10 gr monoflaman ile belirlenmiş bası duyusunun yokluğu/vibrasyon duyusunun yokluğu).

b) **Wagner sınıflaması**

Wagner tarafından 1981'de geliştirilen bu sınıflama, ilk ve en yaygın kullanılan sınıflamalardan biridir (Tablo 5). Ülserin derinliği, enfeksiyon varlığı ve gangren derecesi 0 ile 5 arasında değişir. Bu sınıflamanın dezavantajı iskeminin sınıflamaya dahil edilmemesi ile tüm enfeksiyonların (sepsis, osteomiyelit, apse gibi) tek evrede yer almasıdır (56). Şekil 4' te Wagner sınıflamasına göre yara resimleri gösterilmiştir.

Tablo 5. Wagner Sınıflaması (33)

Evre 0	Sağlam deri ile birlikte kemik çıkıntısı ve/veya kallus oluşumu (ülserasyon için risk)
Evre 1	Derin dokulara yayılımın olmadığı yüzeyel ülser Sıklıkla ayağın plantar yüzünde ve yüksek basınç bölgelerinde oluşur.
Evre 2	Tendon, kemik, ligament veya eklemi içeren derin ülser Osteomiyelit yok
Evre 3	Apse ve/veya osteomiyeliti içeren derin ülser
Evre 4	Parmakları ve/veya metatarsı kaplayan gangren
Evre 5	Kurtarılamayacak düzeyde ve amputasyon gerektiren topuk ve/veya ayağın bütününün gangreni



Şekil 4. Wagner Sınıflama Evrelerine Göre Diyabetik Ayak Ülserlerinin Görünümü (57)

c) **Teksas Üniversitesi Yara Sınıflama Sistemi**

Bu sınıflamada yaranın derinliğine göre 4 derece, enfeksiyon ve iskemiye göre 4 evreye ayrılır (Tablo 6). Yaranın evresi ve derecesi arttıkça amputasyon veya revaskülarizasyon uygulanmadan iyileşme oranı azalmaktadır. Sınıflandırmanın karmaşık oluşu ve hatırlanmasının zor olması günlük kullanımını zorlaştırmaktadır (58).

Tablo 6. Teksas Üniversitesi Yara Sınıflama Sistemi (58)

	Derece 0	**Derece 1**	**Derece 2**	**Derece 3**
Evre 1(A)	Epitelize pre/postülseratif lezyonlar	Tendon, kapsül veya kemiğe ilerlememiş yüzeyel ülser	Tendon veya kapsüle penetre ülser	Kemik veya ekleme penetre ülser
Evre 2(B)	Enfeksiyon	Enfeksiyon	Enfeksiyon	Enfeksiyon
Evre 3(C)	İskemi	İskemi	İskemi	İskemi
Evre 4(D)	Enfeksiyon ve iskemi	Enfeksiyon ve iskemi	Enfeksiyon ve iskemi	Enfeksiyon ve iskemi

d) **Infectios Diseases Society of America (IDSA) Sınıflama Sistemi**

IDSA ve PEDIS sınıflamaları benzerdir fakat enfeksiyon kısmı birkaç ayrıntıyla farklıdır. En önemli avantajları açıkça tanımlanmış olmaları ile birlikte az kategori içermeleridir. Bu durum diyabetik ayak yönetimi ile ilgili daha az deneyime sahip klinisyenlere yardımcı olur. IDSA sınıflamasında yaranın şiddeti, hastaneye yatış ve amputasyon oranları arasında paralellik gözlenmektedir. IDSA sınıflandırması Tablo 7'de gösterilmiştir (59).

Enfeksiyon aşağıdaki maddelerden en az iki tanesinin varlığı ile tanımlanır (25):

- Lokal şişlik
- Eritem
- Lokal hassasiyet veya ağrı
- Lokal ısı artışı
- Pürülan sekresyon

Tablo 7. IDSA Sınıflaması (25)

Enfeksiyon belirti ve bulgusu yok	**Enfekte değil**
• Sadece cilt ve cilaltı dokuları içeren lokal enfeksiyon (daha derin dokular tutulmadan ve sistemik bulgular olmadan) • Ülser çevresindeki eritem >0.5 cm ve ≤ 2 cm olmalı. • Cildin enflamatuar yanıtına neden olabilecek diğer durumlar dışlanmalı. (Travma, gut, akut Charcot nöro-osteoartropatisi, kırık, tromboz, venöz staz gibi.)	**HAFİF**
• Eritem > 2 cm olan ve cilt, cilt altı dokulardan daha derine inen lokal enfeksiyon • Apse, osteomiyelit, septik artrit, fasiit • Sistemik semptomlar yoktur.	**ORTA**
Yukarıda tarif edilen lokal enfeksiyonla beraber SIRS bulgularından 2 tanesinin varlığı. • Ateş > 38° C veya < 36° C • Kalp tepe atımı > 90/dk • Solunum sayısı > 20/dk veya $PaCO_2$ < 32 mmHg • Beyaz küre sayısı (WBC) >12000 veya <4000 hücre/µL veya >%10 band formasyonu	**CİDDİ**

2.3.7. Diyabetik Ayak Enfeksiyonuna Yol Açan Mikrobiyolojik Etkenler

Diyabetik ayak enfeksiyonun etkenleri, enfeksiyonun ağırlığına, akut veya kronik olmasına bağlıdır. Daha önce antibiyotik kullanmamış ve selüliti olan hastalarda gelişen yüzeyel DAE'lerden daha çok *Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Streptococcus pyogene*s gibi aerop Gram-pozitif koklar sorumludur. Daha önce antibiyotik tedavisi alan hastalarda ortaya çıkan derin ve kronik infeksiyonlar genellikle polimikrobiyaldir. Kronik veya antibiyotik tedavisinden sonra ortaya çıkan DAE'nin etkenleri arasında enterokokların da olduğu Gram-pozitif etkenler ve *Enterobacteriaceae* ailesindeki aerop Gram-negatif çomaklar ile *Pseudomonas aeruginosa* da yer alır. Şiddetli lokal inflamasyon, nekroz, gangren veya kötü kokulu akıntısı ve sistemik toksisite bulguları olan diyabetik yaralarda yukarıdaki belirtilen etkenlere ek olarak anaerop patojenler de rol alırlar. Bu anaerop bakteriler, anaerop streptokoklar, *Bacteroides spp.* ve *Clostridium spp.*'dir. Ayak tırnakları ve/veya parmak arasındaki mantar enfeksiyonları diyabetik hastalar için önemli bir sorundur ve zamanında müdahale edilmelidir. Bunlar bakterilerin giriş kapısı olarak rol oynarlar. Bu enfeksiyonların tedavisinde topikal veya oral antifungal ilaçların kullanılması önerilir (37).

S. aureus ve diğer aerob Gram-pozitif bakteriler Orta Avrupa ve Kuzey Amerika' da baskın olmakla birlikte, Gram-negatif bakteriler, özellikle *P. aeruginosa* Asya ve Afrika gibi subtropikal bölgelerde baskın olarak görülmektedir (60). Bunun nedenleri ayakların sık terlemesi, yanlış ayakkabı kullanımı, antibiyotiklerle kendi kendine tedavi sıklığı, sık ayak yıkama ve kötü perineal ve el hijyenine yol açan sıcak iklimdir. Ülkemizde yapılan bir araştırmada *P. aureginosa* insidansının ortalama %13.7 olup, bu oranın 2007-2011 yılları arasında %14.9'a yükseldiği tespit edilmiştir. 2011-2015'i kapsayan başka bir araştırmada ise bu oran %19 olarak belirtilmiştir (61, 62).

Tablo 8'de çeşitli DAE klinik tabloları ve sık görülen patojenler özetlenmiştir.

Tablo 8. Diyabetik Ayak Enfeksiyonları ve Olası Etkenleri (63)

Diyabetik Ayak Enfeksiyonu	**Olası Etkenler**
Ülser olmaksızın selülit	Beta hemolitik streptokoklar (özellikle B grubu) ve *S. aureus*
Ülser veya yara (yeni gelişmiş ve antibiyotik kullanılmamış)	*S. aureus* ve Beta hemolitik streptokoklar
Ülser veya yara (kronik ve daha önce antibiyotik kullanılmış)	Genellikle polimikrobiyal- *S. aureus* ve Beta hemolitik streptokoklarla beraber *Enterobacteriaceae* (Daha önce sefalosporin kullanımı varsa enterokoklar da düşünülmeli)
Ülser veya yara (öncesinde hidroterapi almış veya yeşil-mavi renkli pürülan akıntı varlığı)	*P. aeruginosa* (genellikle diğer etkenlerle beraber)
Geniş nekroz veya gangren, iskemik ayak, kötü kokulu akıntı	Polimikrobiyal: aerob gram pozitif koklar (enterokok dahil), *Enterobacteriaceae*, non-fermantatif gram negatif basiller ve anaeroblar
Sağlık bakımı ile ilişkili	MRSA*, GSBL**(+) gram negatif basil

*Metisilin dirençli *S. aureus* **Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz

Son yıllarda diyabetik ayak enfeksiyonlarında çoklu ilaç direncinde artış gözlenmektedir. Amerika Birleşik Devletleri' nde kronik diyabetik ayak ülseri olan bir hastadan ilk vankomisin dirençli *S. aureus* suşunun izole edilmesi, diyabetik ayak hastalarının çoklu ilaca dirençli mikroorganizmalar için kaynak olduğunu göstermektedir (64). Önceki antimikrobiyal tedavi ve süresi, aynı yaranın hastaneye

yatış sıklığı ile hastanede yatış süresi ve osteomiyelit varlığı çoklu ilaca dirençli DAE'de risk faktörleri olarak bildirilmiştir (65).

Türkiye'de 20 yıllık bir çalışmada diyabetik ayak enfeksiyonlarından izole edilen metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) oranının ortalama %7.8 olduğu, 2007 ile 2011 yılları arasında ise bu oranın %5.7'ye düştüğü saptanmış olup, 2011 ile 2015 seneleri arasında yapılan başka bir çalışmada ise MRSA oranının %6.15 olduğu bulunmuştur (61, 62). Şiddetli enfeksiyon, osteomiyelitin olması, son bir yıl içerisinde hastaneye yatış öyküsü, altı haftadan fazla süredir yara varlığı, uzun süreli antibiyotik (florokinolon grubu gibi) kullanımı öyküsü, önceki MRSA kolonizasyonu ya da infeksiyonu, yüksek yerel MRSA oranları (orta derece enfeksiyon için %30; hafif enfeksiyon için %50), kronik böbrek yetmezliği (KRY) sebebiyle diyalize girmek veya bakım merkezinde kalmak MRSA için risk faktörleridir (37).

Son yıllarda dirençli enterik Gram-negatif basiller, özellikle genişlemiş spektrumlu β-laktamaz (GSBL) oluşturan enterik bakteriler çok yaygın görülen etkenlerdir. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği Diyabetik Ayak İnfeksiyonları Çalışma Grubu (DAİCG) tarafından yakın zamanda yapılan çok merkezli araştırmada diyabetik ayak enfeksiyonu hastalarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarında GSBL pozitiflik oranının %33 olduğunu göstermiştir (37). Genişlemiş spektrumlu β-laktamaz üreten bakteriler için risk faktörleri; 65 yaş ve üstünde olmak, kadın cinsiyet, son bir senede hastaneye yatış öyküsü, tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonu, bakım merkezlerinde uzun süreli kalış, özellikle sefalosporin ve kinolon grubu antibiyotiklerin kullanımıdır (66).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda *Pseudomonas aeruginosa* %4-20 oranlarında patojen olarak rapor edilmiştir. Hastanın ayak parmak aralarının ıslak kaldığı veya nemli havaya sahip yerlerde yaşayan hastalarda sıklıkla karşılaşılan bakterilerden biridir. *Pseudomonas* riski yüzeyi yıpranmış yaralarda, ayağın nemli kaldığı ve bakımı ihmal edilen ayaklarda artar (37). Diyabetik ayak enfeksiyonu olan hastalarda *P. aeruginosa* risk faktörlerini araştıran bir çalışmada sigara kullanımı, yaş, antibiyotik kullanımı, HbA1c, osteomiyelit ve amputasyon öyküsü değerlendirilmiş ancak hiçbiri *P. aureginosa* enfeksiyonları ile ilişkili bulunmamıştır (67). Başka bir

çalışmada ise antibiyotik kullanımı, amputasyon ya da osteomiyelit öyküsü *P. aeruginosa* için risk faktörleri olarak bulunmuştur (68).

2.3.8. Diyabetik Ayak Enfeksiyonunda Tanı ve Klinik

Diyabetik ayak yarası olan hastayı muayene eden hekim, yaranın enfekte olup olmadığını mutlaka değerlendirmelidir. İnflamasyona neden olacak diğer nedenler (travma, fraktür, tromboz gibi) dışlandıktan sonra, yarada kızarıklık, sıcaklık artışı, şişlik, hassasiyet veya ağrı gibi bulgularından en az ikisinin varlığı ya da pürülan akıntının olması durumunda diyabetik ayak enfeksiyonu düşünülmelidir. Enfeksiyona rağmen periferik nöropatiye bağlı olarak hastanın ağrısı az olabilir veya hiç olmayabilir. Ekstremite iskemisi olan hastalarda eritem, vücut ısısında artış ya da endurasyon hafif olabilir. Bu durumlarda yara kenarlarında hasar, ince granülasyon dokusu, kötü koku veya uygun tedaviye rağmen iyileşmeyen yara varlığı gibi ikincil bulgular incelenmelidir (37).

Enfeksiyon genellikle yumuşak dokuda başlar ve derin dokulara, kemiğe bile yayılabilir. Gangren ve osteomiyelit de DAE komplikasyonları arasındadır. Bu nedenle DAE'si olan hastada, lezyonun boyutu; kemik deformitelerinin veya nasırın olup olmadığı; yabancı cisim, apse, nekroz veya sinüs traktının olup olmadığı ayrıca enfeksiyon bulgularının bölgesel lenf düğümlerine yayılıp yayılmadığı hekim tarafından değerlendirilmelidir. DAE'si olan ayak ayrıca iskemi, duyu kaybı ve biyomekanik problemler açısından da araştırılmalıdır. Diyabetik ayak muayenesinde yaranın nereye kadar ilerlediği belirlenmeye çalışılmalı ve periferik nabızları kontrol edilmelidir. DAE tanısı alan hastalar yaranın derinliğine ve genişliğine, enfeksiyonun sistemik bulgularının olup olmamasına göre enfeksiyon şiddeti açısından hafif, orta veya şiddetli enfeksiyon olarak sınıflandırılmalıdır (37).

Genellikle komşu yumuşak dokudaki enfeksiyonun alttaki kemiğe yayılması ile osteomiyelit gelişmektedir. Hastada sosis parmak varsa, yara genişliği $\geq 2cm^2$ ve derinliği ≥ 3 mm ise, kemik dışardan görülüyorsa ve eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) >70 mm/saat ise osteomiyelit düşünülmelidir. Fizik muayene sırasında ucu metal bir telle yara bölgesine girilerek kemiğe temas edip etmediği araştırılır. Bu

teste ‘probe-to-bone testi’ denir. Tel kemiğe temas ederse osteomiyelit için pozitif olarak kabul edilir. Çeşitli çalışmalarda bu testin duyarlılığı %38-94, özgüllüğü %85-98 olarak bildirilmiştir (37).

İnflamasyon belirteçlerinden lökosit sayısı, C reaktif protein (CRP), ESH ve prokalsitonin enfeksiyonu kolonizasyondan ayırt etmede yardımcı olabilir. Enfeksiyon durumunda bu göstergelerden bir ya da birkaçı yüksek seviyelere çıkabilmektedir. Bu göstergeler tek başına DAE tanısı koydurmaz; bununla birlikte sadece tanıya yardımcı olmakla kalmaz, aynı zamanda klinisyenlere enfeksiyonun ciddiyeti hakkında bilgi verebilir (37).

Diyabetik ayak enfeksiyonu tanısı klinik olarak konulduktan sonra enfekte yaradan biyopsi veya küretajla derin doku kültürü alınması ardından ampirik antibiyotik tedavisi başlanması gerekir. Klinik olarak enfekte olduğu düşünülmeyen yaralardan örnek alınması tavsiye edilmez. Pürülan bir akıntı varsa örnek aspirasyon yöntemiyle alınabilir. Örnek almadan önce ölü doku (varsa) temizlenmelidir. Yakın zamanda antibiyotik kullanmamış hafif DAE’de rutin kültür almak gerekmeyebilir. Bu hastalar için kültür gerekliliğine hastanın klinik durumuna göre karar verilmelidir. Sistemik toksisite belirtileri olan şiddetli enfeksiyonlarda doku kültürlerinin yanı sıra kan kültürü de alınmalıdır (10). Yüzeyen sürüntü kültürlerinin cilt florası ile kontamine olabileceğinden alınması önerilmemektedir. Bunlar zor üreyen ve anaerob bakteriler gibi gerçek patojenleri gizleyebilir. Derin doku örneklerinden kantitatif kültür yapılabilir. Burada dokunun ağırlığı başına düşen bakteri sayısı koloni oluşturan birim (cfu) cinsinden ifade edilir. Genel olarak $>10^5$ cfu/ml bakterinin varlığı enfeksiyon lehinedir. Bununla birlikte kantitatif kültür zaman alır, beceri gerektirir ve pahalıdır, dolayısıyla bu etkenler pratikte kullanımını sınırlamaktadır (37).

Steril koşullarda elde edilen kemik kültürünün pozitif sonuçları ile kemik enfeksiyonu ile uyumlu histopatolojik bulgular osteomiyelitin kesin tanısında birlikte kullanılmaktadır. İnflamatuar hücreler, nekroz, kemik yapısının erozyonu ve kemik iliği değişiklikleri osteomiyeliti destekleyen histopatolojik bulgulardır (37).

Görüntüleme yöntemi olarak kemik deformitelerini, yumuşak dokuda gaz ile yabancı cisimleri tespit etmek için öncelikle düz grafi çekilmesi gerekir. İyileşme yavaşsa ya da klinik bulguları kötüleşirse seri radyografiler kullanılmalıdır (69).

Düz grafide osteomiyelit şüphesi varsa ileri görüntüleme yöntemi olarak manyetik rezonans görüntüleme (MRG) kullanılır. MRG osteomiyelitin teşhisi için en uygun görüntüleme yöntemidir (25). Meta-analizlerde diyabetik ayak osteomiyeliti için MRG' nin özgüllüğü %85, duyarlılığı %90 olarak bulunmuştur. MRG' nin nöropatik ülserlerde osteomiyelit ve kemik iliği ödemini ayırt etmek için kullanılabileceği ancak iskemik ülserlerde daha az yardımcı olabileceği belirtilmiştir (27). MRG'nin mümkün olmadığı durumlarda lökosit işaretli sintigrafi tercih edilebilecek yöntemlerden biridir. MRG'nin sintigrafiye göre avantajı yumuşak doku ve sinüs yollarını daha nitelikli göstermesidir. Osteomiyelitin Charcot ayağından ayırt edilmesinde ise sintigrafinin üstünlüğü vardır (70). Sintigrafinin duyarlılığı %80-90'dır ancak özgüllüğü düşüktür (%30-45) (27).

2.3.9. Diyabetik Ayak Enfeksiyonu Tedavi Yaklaşımları

Diyabetik ayak enfeksiyonu tedavisinin amacı hastanın hayatını ve ayağını kurtarmaktır. Tedavi yaklaşımı, acil ve agresif debridman ile ölü ve enfekte dokuları uzaklaştırmak, uygun antibiyotik tedavisine başlamak, kan şekeri kontrolünü sağlamak, ayağı basıdan kurtarmak, PAH tanısını koyarak tedavisini başlamak ve ayak fonksiyonunu eski haline getirmektir (37).

Şiddetli DAE'si olan hastalar, orta şiddette enfeksiyonu ile birlikte PAH'ı olan bazı hastalar, psikolojik ve sosyal nedenlerle evde tedaviye devam edemeyenler ve ayaktan tedaviyle yeterli iyileşme sağlanamayan hastalar hastaneye yatırılmalı ve takip edilmelidir (25).

2.3.9.1. Antibiyoterapi

Tüm enfekte olmuş yaralar kültür alındıktan sonra enfeksiyonun şiddeti ve olası patojenler dikkate alınarak ampirik antibiyotik tedavisi başlanmalıdır.

Hafif ile orta derece enfeksiyonu olan hastalarda, son bir ayda antibiyotik kullanımı yoksa sadece aerop Gram-pozitif bakterilerilere yönelik antibiyoterapi yeterlidir. Bu kriterlerin varlığında hafif enfeksiyonda ilk seçenek olarak oral amoksisilin-klavulanik asit veya klindamisin, alternatif tedavi olarak ise doksisiklin, kotrimoksazol, levofloksasin veya moksifloksasin önerilmektedir. Sefazolin de parenteral olarak kullanılabilir. MRSA için risk faktörü olan hastalarda oral kotrimoksazol, linezolid veya fusidik asid kullanılabilir. MRSA suşlarının duyarlı olduğu gösterildi ise klindamisin de kullanılabilir (37).

Ekstremite kaybı riski olan orta ve şiddetli enfeksiyona sahip hastalara hastaneye yatış ve geniş spektrumlu intravenöz tedavi önerilir. Tercih edilen antibiyotikler, *Staphylococcus* ve *Streptococcus* gibi aerop Gram-pozitif kokları ve *Escherichia coli*, *Proteus*, *Enterobacter, Klebsiella* gibi *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerini; bir risk faktörü varsa veya enfeksiyon şiddetliyse nonfermentatif Gram-negatif bakterileri (*P. aeruginosa* gibi) ve nekrotik lezyonlar varsa anaerobik bakterileri (*Bacteroides* türleri gibi) kapsamalıdır (Tablo 9). Zorunlu anaerobik bakteriler, kronik, daha önceden tedavi almış ya da şiddetli enfeksiyonu olan hastalardan elde edilir. Hafif ve orta derece enfeksiyonlarda önemli değildirler (37).

Şiddetli enfeksiyonlarda ampirik antibiyotik tedavisi geniş spektrumlu başlanmalıdır. Mümkünse önceki kültür sonuçları ile antibiyotik duyarlılık verileri göz önünde bulundurulmalıdır. Gram-pozitif + Gram-negatif (fermentatif ile nonfermentatif) + anaerop bakteriler birlikte kapsanmalıdır. Mikroorganizma ve duyarlılığı saptandıktan sonra kesin antibiyotik tedavisi düzenlenmelidir. Yaşamı tehdit eden şiddetli ve sistemik enfeksiyonda anti *Pseudomonas* β-laktam + MRSA'ya etkili antibiyotiklerle (daptomisin, linezolid, vankomisin veya teikoplanin) tedaviye başlanmalıdır. β-laktam alerjisi varsa tigesiklin + kinolon (siprofloksasin ya da levofloksasin) kullanılması önerilir. MRSA için yüksek risk faktörü varsa, daptomisin, linezolid, teikoplanin ya da böbrek fonksiyonu normalse vankomisin eklenmelidir. *P. aeruginosa* ve MRSA'ya yönelik ampirik tedavi sadece bu etkenlere yönelik risk faktörleri varlığında yapılmalıdır (37). Enfeksiyonun şiddetine göre verilebilecek antibiyotikler Tablo 9'da özetlenmiştir (27).

Toplum kökenli MRSA tedavisinde; trimetoprim-sulfometaksazol, doksisiklin kullanılması önerilir. Hastane kökenli MRSA tedavisinde; vankomisin, daptomisin, linezolid, teikoplanin uygun tedavi seçenekleridir (37).

Tüm şiddetli enfeksiyonlarda ve bazı orta derecede şiddetli enfeksiyonlarda başlangıç tedavisi parenteral olarak önerilir. Sistemik toksisite bulgularının gerilemesi ve kültür sonuçlarına göre parenteral başlanan tedaviye oral olarak devam edilebilir (27).

Hafif dereceli enfeksiyonlarda 1-2 hafta, orta dereceli enfeksiyonlarda 2-3 hafta antibiyotik tedavisi yeterlidir. Enfeksiyon bulguları düzelene kadar antibiyotik verilir. Antibiyotik tedavisini kesmek için yaranın tamamen iyileşmesi beklenmez (25).

Enfekte doku bırakılmayacak şekilde radikal cerrahi rezeksiyon yapılan osteomiyelit hastalarında rezeksiyon sonrası antibiyotik tedavi süresi 2-5 gündür. Cerrahi rezeksiyon yapılamayan enfekte ya da nekrotik kemik varsa 4-6 hafta antibiyotik tedavisi önerilmektedir (37).

Tablo 9. DAE Ampirik Antibiyotik Tedavisi (27)

HAFİF ENFEKSİYON	Komplike edici faktör yok	Gram pozitif kok	Penisilinaz dirençli penisilin, 1.kuşak sefalosporin
	Beta-laktam alerjisi varsa	Gram pozitif kok	Klindamisin, Florokinolon, Trimetoprim-sulfometaksazol, Doksisiklin
	Antibiyotik kullanımı varsa	Gram pozitif kok + Gram negatif basil	Amoksisilin-klavulonik asit, Ampisilin-sulbaktam, Trimetoprim-sulfometaksazol, Florokinolon
	Yüksek MRSA riski varsa	MRSA	Linezolid, Florokinolon, Trimetoprim-sulfometaksazol, Doksisiklin, Makrolid
ORTA VE ŞİDDETLİ ENFEKSİYON	Komplike edici faktör yoksa	Gram pozitif kok ± Gram negatif basil	Amoksisilin-klavulonik asit Ampisilin-sulbaktam 2. ve 3. Kuşak sefalosporin
	Yakın zamanda antibiyotik kullanımı varsa	Gram pozitif kok ± Gram negatif basil	Tikarsilin-klavulonik asit Piperasilin-tazobaktam Ertapenem
	Masere ülser varlığı ve ılıman iklim	*P. aeruginosa* dahil gram negatif basil	Tikarsilin-klavulonik asit Sefoperazon-sulbaktam Piperasilin-tazobaktam İmipenem, Meropenem Doripenem Penisilinaza dirençli penisilin+ Seftazidim ya da Siprofloksasin
	İskemik ayak, nekroz, gaz formasyonu	Gram pozitif kok ± Gram negatif basil± Anaerob	Amoksisilin-klavulonik asit Ampisilin-sulbaktam Karbapenemler 2. veya 3. Kuşak Sefalosporin+ Klindamisin veya Metronidazol
	Yüksek MRSA riski varsa	MRSA	Linezolid, daptomisin Fusidik asit, Florokinolon Trimetoprim sulfometaksazol ±Rifampisin Doksisiklin
	Dirençli gram negatif basil riski varsa	GSBL+ Gram negatif basil	Karbapenemler, Kinolonlar Aminoglikozid, Kolistin

2.3.9.2. Cerrahi Tedavi

Diyabetik ayak yaraları için dört cerrahi girişim vardır:

1. Diyabetik ayak enfeksiyonu olan yarayı enfeksiyonsuz bir yaraya çevirmek için basit lokal debridmanlardan amputasyona kadar uzanan cerrahi girişimler
2. Yaranın kapanmasını sağlamak için rekonstrüktif müdahaleler
3. Yaranın kapatılabilmesi için gerekli minimum kan dolaşımını sağlamaya yönelik revaskülarizasyon girişimleri
4. Kapanan yaraların yeniden açılmasını önlemeye ve yükü azaltmaya yönelik cerrahi operasyonlar

Yara iyileşmesini sağlayabilmek için hematom, apse materyeli, yaradan ölü dokular, eskar, hiperkeratoz, yara kabukları, enfekte dokular, yabancı cisim, kemik parçaları ve her tür doku artığının temizlenmesi işlemine debridman denir. Enfekte doku debridman ile tamamen temizlenemezse ve hastanın kalan enfeksiyon yüküyle başa edemeyeceği durumlarda, enfeksiyon bulunmayan güvenli seviyeden amputasyon yapılması hayat kurtarıcı olacaktır. Apse varlığı, nekrotizan fasit ve kompartman sendromu diyabetik ayak enfeksiyonları için acil cerrahi operasyon endikasyonlarıdır. Sistemik enfeksiyon göstergeleri ne kadar yüksekse, o kadar erken cerrahi müdahale yapılmalıdır (25, 37).

Revaskülarizasyonun amacı ayağın arterlerinden doğrudan direkt pulsatil akım sağlamaktır. Günümüzde ilk aşama olarak vasküler cerrahiden çok endovasküler girişimler tercih edilmektedir. Rekonstrüksiyonun amacı ayağın nötral pozisyona ve mekanik aksa getirilmesini sağlamaktır (37).

2.3.9.3. Diğer Tedaviler

Hiperbarik oksijen tedavisi (HBOT): HBOT, basınç odası içerisinde tamamen basınç altına alınmış hastaların %100 oksijen solumasına dayanan medikal

bir tedavi şeklidir. Yüksek basınç altında solunan oksijenin plazmada çözünmesiyle hücrelere normalin 20 katına kadar daha fazla oksijen transfer edilir; oksijen basıncının artması oksijenin difüzyon mesafesini 2-3 kat artırır. HBOT antimikrobiyal etkilere sahip olduğu ve hipoksik yara dokularının oksijenlenmesini artırdığı bildirilmiştir. HBOT nötrofil öldürme yeteneğini artırmasının yanında, anjiyogenezisi uyarır ve kollagen sentezini tetikler (37).

Negatif basınçlı yara kapama tedavisi: Vakum yardımlı kapama (VAC) bu tedavinin temelini oluşturmaktadır. Yara bölgesini steril bir şekilde kapatarak buraya sürekli ya da aralıklı negatif basınç uygulamasına dayalı sistemdir. VAC tedavisi ile granülasyon dokusu gelişimi ve lokal kan akımı artarken, lokal ödem ve bakteri kolonizasyonu azalır (37).

Büyüme faktörleri: Diyabetik ayak yaralarında topikal olarak uygulanan Epidermal growth faktörü (EGF)'nin yara iyileşme oranlarını artırıp, iyileşme süresini kısaltmasına rağmen, daha ucuz ve güvenli cerrahi ve diğer tıbbi yöntemlerle kapanabilecek yaralarda rutin kullanımı önerilmez (37).

Larva (Maggot) Tedavisi: Maggot tedavisi, kronik yaraları tedavi etmek için Lucilia (Phaenicia) sericata sineğinin steril larvalarının kullanılması işlemidir. Dezenfeksiyon, debridman ve büyüme destekleyici etki gibi üç temel işlemi gerçekleştirerek yara iyileşmesini yardımcı olur. Venöz staz ülserleri, iyileşmeyen nekrotik yara, nöropatik ayak ülserleri ile basınç ülserlerinin tedavisinde kullanılabilir (71).

IDSA rehberi DA osteomiyelitinde tedavi için büyüme faktörleri, HBOT, larva tedavisi ve VAC tedavisinin kullanımını önermemektedir (25).

2.3.10. Önleme

Diyabetik ayak ülserlerinin önlenmesinde öncelikle yüksek risk grubundaki hastaların belirlenmesi gerekir. Diyabetli tüm hastalara cilt tahrişi, anatomik deformiteler, his kaybından koruma, tırnak bozuklukları, azalmış arteriyel beslenme

ve uygunsuz ayakkabı değerlendirmesini içeren yıllık ayak muayenesi yapılmalıdır. Ayak ülseri riski yüksek olan hastalar daha sık kontrol edilmelidir. Ülserasyonu önlemek için etkili müdahaleler; doğru ayak bakımı ve düzenli ayak muayeneleri hakkında hasta ve yakınlarının eğitimidir. Diğer etkili klinik müdahaleler arasında kan şekeri kontrolü, kilo verme, sigarayı bırakma, nasır debridmanı ve koruyucu ayak cerrahisi bulunur (72).

2.4. Gen Polimorfizmi

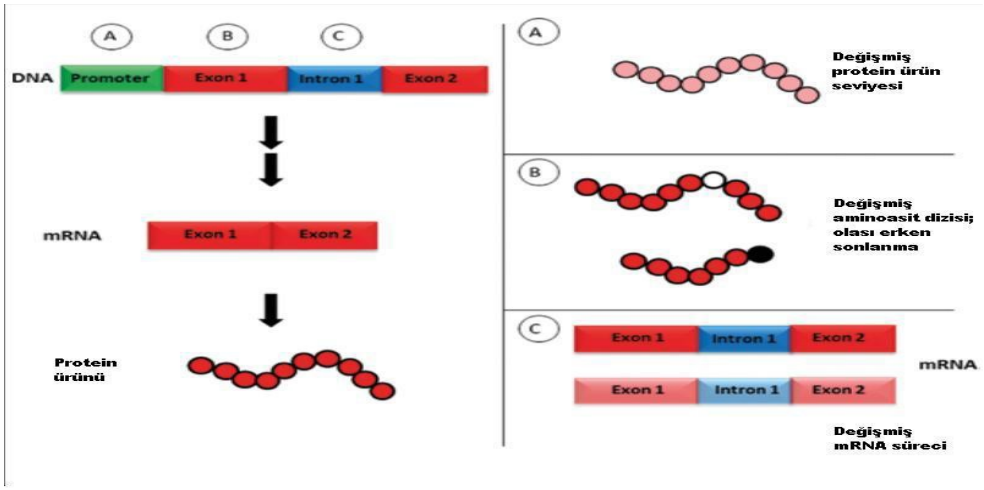
Bir türün üyeleri arasında aynı genin birçok başka formu bulunmaktadır. Bu nedenle aynı tür organizmalar genellikle birbirinden farklı fenotip göstermektedirler (73). Polimorfizm, populasyonun genelinde %1 veya daha fazla oranda görülen DNA dizi varyasyonlarıdır. Bir özellik açısından seçenekli olan fenotiplerin kuşaklar boyu aynı sıklıkla sürdürülmesine ise dengeli polimorfizm denir (74). Normal populasyonda bir karakter için iki veya daha fazla fenotip bulunuyorsa ve fenotiplerden her biri populasyonda %1'den daha büyük sıklıkla görülüyorsa bu duruma genetik polimorfizm denir (75).

Polimorfik dizi varyantları, genelde gen dizilerinin dışında kalan DNA bölgelerinde bulundukları için spesifik hastalıklara neden olmazlar ancak bazı hastalıklar ile paralellik gösterdikleri durumlarda marker olarak kullanılabilirler. Ek olarak genomun %97'sini oluşturan kodlanmayan DNA dizilerindeki TNP ilaç metabolizması ile ilaç etkileşimlerinin bireye ve farklı populasyonlara göre anlamlı ilişkiler gösterdiği anlaşılmıştır. Bu durum kişiye özel ilaçların tasarlanmasına imkan sağlamıştır (74, 76).

DNA'daki nükleotid dizisinin %99,9 gibi bir kısmının tüm insanlarda aynı iken yalnızca %0,1'lik bir bölümü farklılık göstermektedir. DNA dizisinin bu %0,1'lik değişiklikler, bireylerin birçok hastalığa ve ilaca farklı duyarlılık göstermelerine sebep olmaktadır (77). DNA tamiri, hücre döngüsü kontrolü, sinyal iletimi gibi hücre metabolizmasının önemli yolaklarında yer alan genlerin kritik pozisyonlarında görev alırlar. Gen tarafından kodlanan proteinin işlevi ve enzim aktivitesi bu değişikliklerden etkilenebilir. Hücre metabolizması için kritik önem

taşıyan proteinlerin işlev bozulması hastalıklara neden olmakta veya hastalık oluşma riskini artırmaktadır (78). Sağırlık, körlük, meme kanseri ve kas hastalığı ile ilgili bazı genlerin yeri saptanmış iken artrit, kardiyovasküler hastalık, diyabet ve kanser gibi hastalıkların genlerinin çalışması devam etmektedir (77). Gen polimorfizmleri populasyonda yaygın görülmekte birlikte, etnik ve coğrafi farklılıklar göstermektedirler. Bu yüzden farklı ülkelerde de hastalıkların polimorfizmleri incelenmesi gerekmektedir (78).

Bir polimorfizminin etkisi gende bulunduğu lokasyona bağlıdır (Şekil 5). Şekilde görüldüğü üzere, A) Promotor bölgesi transkripsiyon oranını belirlediği için bu bölgede yer alan bir polimorfizm protein ürününü etkileyebilir. B) Ekzondaki bir polimorfizm, bir aminoasiti bir diğer aminoasite ya da sonlandırma kodonuna dönüştürerek protein ürününü ya da işlevini değiştirebilir. C) İntrondaki bir polimorfizm, intronların silinmesine ya da mRNA moleküllerinin analizinin artmasına, azalmasına sebep olabileceğinden mRNA oluşum sürecini etkileyebilir (79).

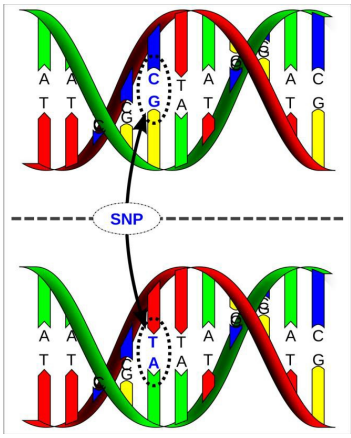


Şekil 5. Genetik Polimorfizmin Etkileri (79)

2.4.1. Tek Nükleotid Polimorfizmleri

İnsan genomunda en çok görülen polimorfizmler olan TNP'ler özgün bir pozisyonda bulunan adenin bazının timine dönüşmesi gibi genom dizisindeki tek

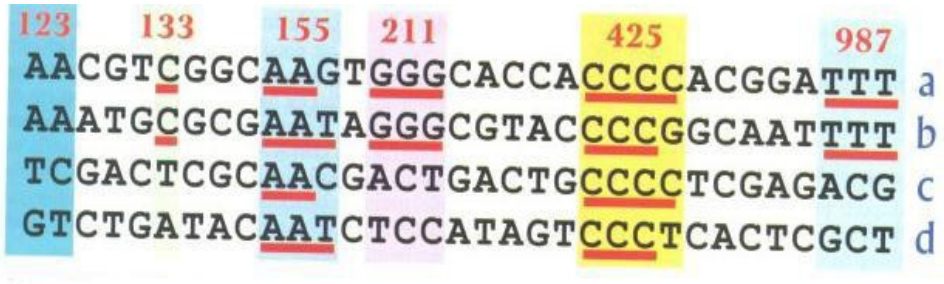
nükleotid (A, T, C, G) değişimleridir (Şekil 6). Tek nükleotid polimorfizmlerini normal mutasyondan ayıran bazı farklılıklar vardır. Öncelikle bir değişimin TNP olarak tanımlanabilmesi için, toplumun en az %1'inin DNA dizisinde görülmelidir. Tek nükleotid polimorfizmleri etkinlikleri düşük olmalarına rağmen yaygındırlar. Ama tek başlarına hastalığa yol açmazlar. Mutasyonlar ise nadir görülmelerine rağmen etkinlikleri yüksek olup tek başlarına hastalığa yol açarlar. Tek nükleotid polimorfizmleri genlerin içinde ya da gene yakın bir bölgede bulunabilirler. Genomun çok küçük bir bölümü gen kodladığı için, TNP'ler genellikle gen kodlamayan bölgelerdedir. İnsan genomunda 15-30 milyon TNP olduğu öngörülmektedir ve günümüzde 13 milyona yakını tanımlanmıştır (80).



Şekil 6. Tek Nükleotid Polimorfizmi Şematik Görünümü (81)

Tek nükleotid polimorfizmleri benzer koşullarda neden bazı bireylerin daha sağlıklı iken, diğerlerinin hastalığa yatkın olmasına, aynı hastalığın farklı bireyler arasında neden farklı şekilde seyrettiğine, ayrıca bazı bireylerin tedaviye olumlu yanıt verirken, diğerlerinin vermemesine büyük oranda açıklık getirir. Çünkü DNA'larımız arasındaki %0,1' lik farkın büyük kısmını TNP' ler oluşturur. Bu farklılıklar bireyler üzerinde çeşitli etkiler yaratır. Örneğin, fenotipi etkileyen bazı farklılıklar zararsızken, bazıları kalp hastalığı, alzheimer, diyabet, kanser, otizm, şizofreni gibi hastalıklara sebep olabilir (80). Bundan dolayı TNP' ler önemli hastalıklarda risk tayini için genetik belirteç olarak kullanılabilmektedirler (82). Bu polimorfik durumlar ilaç seçimi ve ilaca cevapta kişiler arasındaki farklılıkları açıklamak ve kişiye özgü tedavi seçenekleri geliştirmek için de yararlanılmaktadır

(83). Şekil 7' de dört farklı bireye ait genom dizilerindeki TNP profilinin, bir ilaca verilecek cevabı önceden saptamada nasıl yardımcı olabileceği gösterilmiştir.



Şekil 7. Dört Farklı Bireye Ait Genom Dizilerindeki TNP Profilinin, Bir İlaca Verilecek Cevabı Önceden Saptamada Nasıl Yardımcı Olabileceğinin Şematik Gösterilmesi (76)

2.4.2. Sitokin Gen Polimorfizmleri

Sitokinler doğal ve sonradan kazanılmış bağışıklık arasında bağ kurar, lenfositlerin farklılaşmasını etkileyerek immün cevabın özelliklerini belirler ve az sayıda lenfositin mevcut mekanizmaya olan etkisini güçlendirir (84). Bu nedenle genetiğin sitokin üretimindeki kontrolü düşünüldüğünde bu genlerin çok sayıda TNP içeriyor olması DM ve diyabetik ayak polimorfizm çalışmalarını arttırmıştır.

İnsan hastalıkları üzerine yapılan genetik çalışmalar, hastalık etyopatogenezinde önemlidir. Sitokin gen polimorfizmlerinin tespiti ile,

- Bir hastalığa karşı olan duyarlılık, hastalığın şiddeti ve prognozunu etkileyen faktörler tanımlanabilir.
- Terapötik ajanlara cevap veren ve vermeyen potansiyel belirteçler tanımlanabilir.
- Yeni terapatik ajanlar ile hastalara uygun immüno-düzenleyici tedavi yöntemleri,
- Aşı vb. yeni koruma stratejileri geliştirilebilir (85, 86).

2.4.3. Diyabet ve Diyabetik Ayak Ülseri ile İlgili Yapılan Polimorfizm Çalışmaları

Diyabetik ayak ülseri olan ve olmayan tip 2 DM hastalarında yapılan çalışmada İnterlökin-6'nın DAÜ ile ilişkili olduğunu, IL-6 (-174 G>C) ve G alel polimorfizminin diyabet için bir risk faktörü olduğunu ancak diyabetik ayak ülseri için bağımsız bir risk faktörü olmadığı saptanmıştır (87).

"IL-6, İnterlökin-10 (IL-10) ve TNF-α genlerinin tek nükleotid polimorfizmlerinin gestasyonel diyabet mellitusa duyarlılıkla ilişkisi" çalışmasında IL-6 rs1800796 G, IL-10 rs1800896 C ve TNF-α rs1800629 A alellerinin, gestasyonel DM' e karşı artan duyarlılık ile ilişkili olduğu bulunmuştur (88).

Zagozda ve arkadaşları tarafından yaş aralığı 18-91 yaş olan toplam 271 kişide yapılan "Alt ekstremite kronik enfeksiyonu olan hastalarda TNF- α ve TGF-β'nın genetik polimorfizm ve mRNA konsantrasyonları" çalışmada TNF- α ve TGF-β gen polimorfizmlerinin Polonya halkında kronik alt ekstremite enfeksiyonlarının gelişmesine yatkınlık oluşturduğu gösterilmiştir (89).

Tip 2 diyabetli ve diyabetik ayağı olan hastalarda Toll benzeri reseptörler -2 ve -9 (*TLR2* ve *TLR9*) gen polimorfizmi çalışmasında TLR9-1237 T / C polimorfizmi ile DAÜ riski arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir (90).

Nuclear Factor, Erythroid 2 Like 2 (NRF2) promoter bölgesinin (rs35652124) genetik polimorfizmi ile diyabetik ayak ülseri riskinin araştırıldığı çalışma, NRF2 TNP rs35652124'ün Güney Hindistan halkında tip 2 DM ve diyabetik ayak ülseri için tanısal bir genetik belirteç olabileceğini ve NRF2'nin azalmış transkripsiyonel seviyeleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir (91).

Büyük apseleri ve diyabetik ayak enfeksiyonları olan hastalarda lezyon boyutunun TLR1, TLR6 ve Toll-interlökin-1 reseptör domain içeren adaptör protein (TIRAP) genetik polimorfizm ile ilişkili olduğu saptanmıştır (92).

İnterlökin-6 polimorfizminin (rs1800795) tip 2 DM'de mikrovasküler komplikasyonlar ile ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada, tip 2 DM'nin mikrovasküler komplikasyonlarının duyarlılığı ile IL-6 genindeki rs1800795 polimorfizminin arasında ilişki olmadığını bulunmuştur (93).

Isı şok proteini (HSP) 70 gen TNP'lerinin ve diyabetik ayak ülseri arasında ilişkinin araştırıldığı çalışma bulgularında T / T genotipinin, Kuzey Hindistan halkında tip 2 DM hastalarında diyabetik ayak ülserine yatkınlık ile anlamlı ve pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Bulgular ayrıca diyabetik ayak ülseri olan hastalarda daha yüksek bir HSP70 plazma konsantrasyonu olduğunu göstermiştir (94).

Türk halkında diyabetik ayak ülseri olan ve olmayan tip 2 diyabetik hastalarda endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) ve VEGF gen polimorfizminin ilişkisinin incelendiği çalışmada eNOS G894T'nin gen polimorfizminin diyabet oluşumu için bir risk faktörü olduğu ancak T allelinin, diyabetik ayak oluşumu için risk faktörü olmadığı bulunmuştur. VEGF C936T gen polimorfizminin diyabet için bir risk faktörü olduğu saptanmıştır (95).

Türk halkında yapılan diyabetik ayak ülseri olan ve olmayan Tip 2 DM hastalarında apolipoprotein E (ApoE) gen polimorfizminin ilişkisinin araştırıldığı çalışmada ApoE ve E3 alelinin gen polimorfizminin diyabet için bir risk faktörü olduğu, ancak ApoE'nin gen polimorfizminin, DAÜ için bağımsız bir risk faktörü olmadığı gösterilmiştir (96).

Yaptığımız araştırmalarda mevcut çalışmaların diyabetik ayak ülserlerinde pek çok farklı genin (Neurotensin geni, MMP9 geni, VEGF geni, TCF7L2 geni, TLR2 ve TLR4 vb) rolü olduğu ancak diyabetik ayak enfeksiyonu gelişmesinde gen polimorfizmlerinin rolünün olduğu direk bir çalışma yoktur. Diyabetin sık ve ciddi komplikasyonu olan diyabetik ayak enfeksiyonu oluşumunda hastalığa yatkınlığın ve risk faktörlerinin belirlenmesi enfeksiyonun önlenmesinde önem arz etmektedir. IL-6 ve TNF-α gen polimorfizmlerinin diyabetik ayak enfeksiyonu arasındaki ilişkinin incelendiği çalışmanın bulunmaması nedeniyle yaptığımız çalışmanın, IL-6 ve TNF-

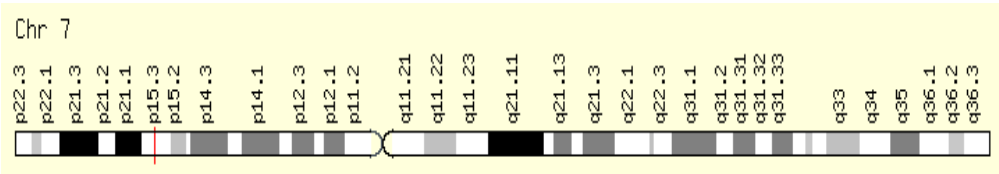
α gen polimorfizmlerinin DAE ile ilişkisininin inceleneceği, DAE oluşumunda risk faktörlerinin belirleneceği yeni geliştirilecek tedavi yaklaşımları ile ilgili yapılacak olan çalışmalara yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

2.4.4. İnterlökin-6 ve Genel Bilgiler

İnterlökin-6, aktive edilmiş T ve B hücreleri ile monosit ve fibroblastlar tarafından üretilen, pleitropik (bir genin birden çok fenotipi etkileme durumu) etki gösteren, TNF-α ile birlikte inflamasyonda aracı rol oynayan bir sitokindir (97). B hücrelerden immünoglobulin üretimini uyarır. Hem pro-inflamatuar hem de anti-inflamatuar bir sitokin gibi davranan IL-6, hepatositlerden akut faz yanıtında yer alan çeşitli plazma proteinlerinin sentezini indükler. Tunika mediadaki düz kas hücrelerinden üretilen IL-6 proinflamatuar iken, IL-6'nın antiinflamatuar rolü ise TNF- α ve IL-1 için inhibitör, IL-1Ra ve IL-10 için aktivatör etkileri aracılığıyla sergilenir (98).

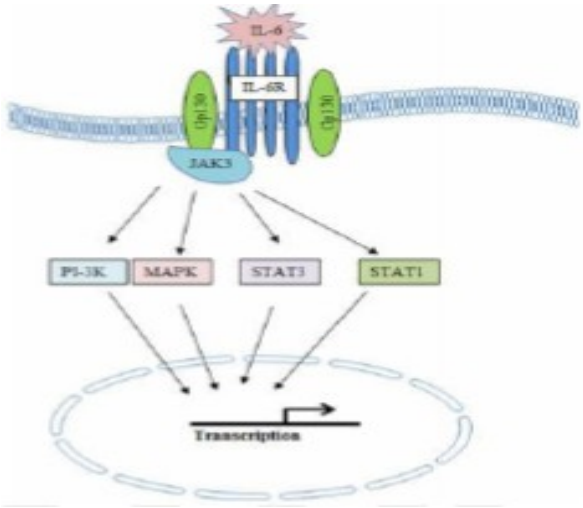
Dört α-helikal uzun zincir ailesine ait olan IL-6, 26kDa ağırlığında bir proteindir. Lenfoid ve nonlenfoid birçok hücre tarafından üretilir. Akut faz reaksiyonları, immünglobülin salgılanması, T ve B hücre fonksiyonu, hematopoez gibi biyolojik etkileri vardır. IL-1 ve TNF-α gibi sitokin kaskadında yer alır ve enfeksiyona karşı immünoinflamatuar yanıtı düzenler (98).

İnterlökin-6 geni kromozom 7q21 üzerinde bulunur ve reseptörleri 7p21-14 (IL-6), 1(IL-6Rα), 5 ve 17 Glikoprotein (gp) 130' de lokalizedir (98). Şekil 8' de IL-6 yerleşimi görülmektedir (99).



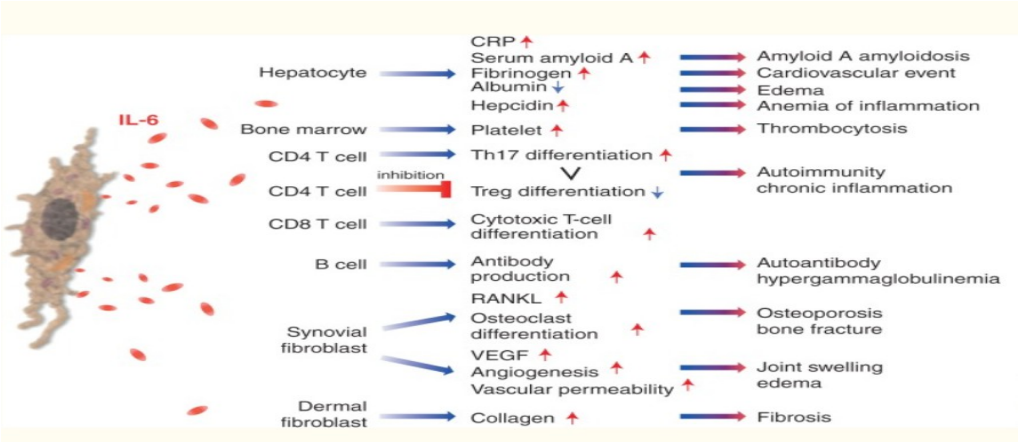
Şekil 8. Yedinci Kromozomda Bulunan IL-6 Gen Konumu (99)

İnterlökin-6 doğal ve adaptif immünitede yer alır. İnflamasyon, doku onarımı, vücut savunması, glukoz ve yağ metabolizmasında rol oynar. IL- 6 sinyallerini glikoprotein 130 (gp130), Janus kinaz/ Sinyal ileticisi transkripsiyon aktivatörü (JAK /STAT) yolağını kullanarak iletirler (100, 101).



Şekil 9. IL-6 Sinyal Yolakları (102)

İnterlökin-6 aktifleşmiş T ve B hücrelerinden, endotelyal hücrelerden, makrofajlardan, fibroblastlardan, adipositlerden salgılanır. Salgılanmasını TNF-α, IL-1b, oksidatif stress ile bakteriyel endotoksinler gibi uyarıcılar tetikler (103, 104). B hücrelerinin farklılaştırılması, lenfositlerin aktifleştirilmesi ve proliferasyonu, lökosit üretimi ve akut faz proteinin indüklemesi yönüyle inflamasyonu tetikler (105). IL-6 kompleksinin aktive olması Janus kinazları, sinyal dönüştürücülerini ve transkripsiyon etkinleştiricilerini tetiklediği için hücre proliferasyonunda ve apoptozisin düzenlenmesinde rol alır. Bu yönüyle de inflamasyon kaskatı ile hücre çoğalmasının kontrolünde önemli rol oynar ve dolayısıyla dislipidemi, hipertansiyon, tip 2 DM ve kanser gibi hastalıkların mekanizmalarını düzenler (104, 106). IL-6'nın etkileri şekil 10' da gösterilmiştir.



Şekil 10. IL-6' nın Etkileri (107)

Otoimmün hastalıklar ve malignite gibi kronik inflamatuar hastalıkların patogenezinde IL-6 üretiminde bozukluk olduğu saptanmıştır (108).

İnterlökin-6 poliklonal B hücre aktivasyonu ve otoimmün sendromların patogenezinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (97, 109).

İnterlökin-6 virulan infeksiyonlara karşı koruyucudur ve bu koruyucu etkinin bir kısmı nötrofil aracılı gerçekleşir. Karaciğer transplantasyonundaki akut komplikasyonlar sırasında IL-6'nın aşırı salınımı söz konusudur. Birçok hücre tipi için otokrin büyüme faktörü olan IL-6 plazmasitoma, multipl myelom, servikal karsinoma ve Kaposi sarkoması gibi malignensilerle ilişkilidir (98). Yapılan çalışmalarda diyabet, alzheimer, depresyon, lupus eritematozus ve romatid artritte rol aldığı gösterilmiştir (110-114).

2.4.5. İnterlökin-6 ile İlgili Yapılan Polimorfizm Çalışmaları

İnterlökin-6'nın en çok üzerinde durulan TNP' leri (597 G→A, -572 G→C, -174 G→C) promotor bölgesinde konumlanmıştır. Bu TNP' lerin heterozigot ve homozigot örneklerin farklı IL-6 seviyesi profili çizdiği ortaya konmuştur (115, 116).

İnterlökin-6 geni üzerinde belirlenmiş bir diğer polimorfizm -174G/C tek nükleotid polimorfizmidir. IL-6 geninin promoter bölgesinde oluşan polimorfizmler ve transkripsiyon farklılıkları, dolaşımdaki sitokin miktarını değiştirebilmektedir. IL-

6 promotor polimorfizmi üzerine yapılan çalışmalarda C allelinin plazmadaki düşük IL-6 seviyesiyle ilgili olduğu gösterilmiştir (117).

Böbrek nakil hastalarında IL-6 promotor polimorfizminin (-174 G/C) doku nakli reddi, kronik allograft nefropati konusunda farklı populasyolarda yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar ortaya çıkmıştır. İspanya'da yapılan bir çalışmada CC genotipinin bu hastalıklarla ilişkilendirilemeyeceği belirtilirken (118), Almanya ve Bulgaristan'da yapılan benzer çalışmalarda da destekleyici sonuçlara ulaşılmıştır (119, 120).

Bir çalışmada IL-6 -174 G/C varyantının, fibrinojen seviyesine etki etmediği halde sistolik kan basıncında rol oynadığı gösterilmiş olup koroner arter hastalığı ile ilişkilendirilebileceği bulunmuştur. Koroner arter hastalığında üretimi artan IL-6 molekülünün C-reaktif proteini ve fibrinojenin yanında önemli olduğu belirtilmiştir (121).

Yapılan epidemiyolojik ve ailesel çalışmalarla hipertansiyonun gelişiminde genetik yatkınlığın önemli olduğu kabul edilmiştir. Hipertansiyonlu hastalarının değişikliğe uğramış pro ve anti-inflamatuar sitokin profiline sahip olmasından yola çıkarak, Rusya'daki Tatar populasyonunda yapılan araştırmada IL-6 gen polimorfizmlerinin hipertansiyonun kardiyovasküler komplikasyonlarda önemli bir rolü olduğu bulunmuştur. Bunun sebebi IL-6'nın -174 gen bölgesindeki C alleli hemodiyaliz hastalarında yükselen kan basıncının oluşmasına katkı sağlamasıdır (122).

İran'da yapılan bir çalışmada IL-6 polimorfizminin sistemik lupus eritematozus (SLE) etyopatogeneziyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada IL-6 -572 G/C gen bölgesinin genotip ve allelik frekanslar bakımından kontrol gruplarından farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak -174 G/C bölgesi için anlamlı bir sonuç saptanmamıştır (123).

Akut pyelonefrit hastaları ile miyokard infarktüsü (MI) riski olan hastaların üzerinde yapılan polimorfizm çalışmalarında da benzer şekilde IL-6 (-174 G/C)

promotor bölge polimorfizmi hastalık ve klinik bulgularla ilişkili bulunmamıştır (124-126). Buna karşılık, Ridker ve arkadaşları IL-6'nın inflamasyon ve doku hasarındaki etkisine dikkat çekerek yükselen IL-6 seviyesinin sağlıklı erkeklerde MI riskini arttırdığını belirtmiştir (127).

İnterlökin-6'nın bir diğer etkisi de lipid anormallikleriyle olan ilişkisidir. İnsülin direnci sendromuyla lipid anormalliği olan bireylerde yüksek IL-6 seviyesi tespit edilmiş olup, IL-6 (-174 G/C) polimorfizminin plazma kolesterol seviyeleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (128).

İnterlökin-6 -174 C/C polimorfizmi olan özofagus kanser hastalarında metastaz riskinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (129).

İnterlökin-6 -174 G/C promotor polimorfizminin otopsi böbrek dokuları üzerinde yapılan bir araştırmada Pb, Cd ve Cu gibi metal seviyeleri ile anlamlı bir ilişkisi bulunamamıştır (130).

Diyabetik ayak ülseri olan ve olmayan tip 2 DM hastalarında yapılan çalışmada IL-6'nın DAÜ ile ilişkili olduğunu, IL-6 (-174 G>C) ve G alel polimorfizminin diyabet için bir risk faktörü olduğunu ancak diyabetik ayak ülseri için bağımsız bir risk faktörü olmadığı saptanmıştır (87).

İnterlökin-6 -174 G/C promotor bölge polimorfizmi üzerine yapılan ilişkileri özetlersek, alzheimer, ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet mellitus, diyabetik ayak ülseri, osteoporoz, sepsis gibi yaygın hastalıklarla ilişkili olabileceği çalışmalarla gösterilmiştir (131, 132).

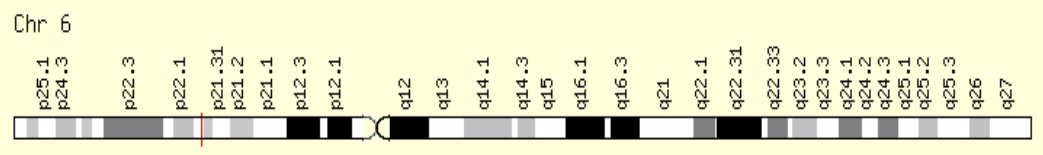
2.4.6. Tümör Nekroz Faktör-α ve Genel Bilgiler

α ya da β formunda olabilen TNF' ler T-hücreler, makrofajlar ve diğer hücreler tarafından üretilen tümör hücrelerinde hemorajik nekroza neden olan pleitropik bir sitokindir. Tümör nekroz faktörü-α, 157 aminoasit içerirken, TNF-β ise 171 aminoasitten oluşan bir lenfotoksindir. Kaşektin, sitotoksin, makrofaj sitotoksik

faktör, nekrozin, hemorajik faktör gibi isimlerle de tanınan TNF-α ile lenfotoksin ya da sitotoksin olarak da bilinen TNF-β hem yapısal hem de biyolojik olarak benzerdir (98).

Tümör nekroz faktörü-α, sinyal çapa transmembran bölgesi içeren tip II membran proteini olarak eksprese edilir ve Metallopeptidaz bölge 17 (ADAM-17) (TACE ya da TACA olarak da bilinir) tarafından intraselüler olarak işlenir. Tümör Nekroz Faktörü-α yaklaşık 25 kDa ağırlığındaki nonglikolize bir protein olarak sentezlenir. Sentezlendikten sonra, latent pro-TNF- α (26 kDa) monositlerin ya da diğer hücrelerin, hücre yüzeyinde depolanır. pro-TNF-α, ADAM-17 ile parçalandıktan sonra 17 kDa ağırlığındaki çözünebilir, aktif formuna dönüşür (98).

Hem TNF-α, hem de TNF-β geni kromozom 6p21.3'de bulunur ve 4 ekzon içerir. Salınan proteinin %80'den fazlası son ekzonda kodlanır. Genler MHC klas III bölgesindedir. TNF-α ve TNF-β'nın MHC bölgesindeki lokasyonları, MHC ile ilişkili genetik etkilerde roller üstlenmelerine neden olur (98). Şekil 11'de TNF yerleşimi görülmektedir.



Şekil 11. Altıncı Kromozomda Bulunan TNF Gen Konumu (133)

Tümör nekroz faktörü-α öncelikle aktive monosit ve/veya makrofajlar tarafından olmak üzere aktive T hücreler, B hücreler, doğal öldürücü (natural killer- NK) hücreler, mast hücreleri, endotelyal hücreler, fibroblastlar, keratinositler, mikroglia, astrositler, Kupffer hücreleri, düz kas hücreleri, sinovyal hücreler ve bazofiller tarafından üretilir. Asıl kaynağı CD14 monosit ve/veya makrofajlarıdır. IL-6, IL-10 ve TNF-α sekresyonları arasındaki pozitif korelasyon, bu sitokinlerin salınımlarının koordineli olarak düzenlendiklerini göstermektedir (98).

Tümör nekroz faktörü-α, bakteri (endotoksinler ve lipopolisakkaritler (LPS)), virüsler, protozoa, sitokinler (GM-CSF, IL-1, İnterlökin-2 (IL-2), İnterferon gama (IFN-γ) ve TNF-α'nın kendisi), immün kompleksler, komplement komponent C5a, substans P ve reaktif oksijen bileşiklerine yanıt olarak salınırken, IL-10, TGF-β, siklosporin A, Prostaglandin E2 (PGE2), deksametazon, ibuprofen, metilprednizolon ve pentoksifilin tarafından üretimi inhibe olur. Tümör nekroz faktörü-α üretimi NO, reaktif oksijen bileşikleri, nonsteroidal antiinflamatuar ilaçlar ve hipoksi ile aktive olur (98).

Tümör nekroz faktörü trimeriyle reseptörün çapraz bağlanması sinyal transdüksiyonu için önemlidir.

Tümör nekroz faktörü-α'nın etkilerine aracılık eden önemli sinyal mekanizmaları;

1. Nükleer faktörü kappa B (NF- Kb) aktivasyonu: Hücre sağ kalımı, proliferasyon, inflamatuar yanıt ve antiapoptotik faktörlerle ilişkili çeşitli proteinlerin transkripsiyonuna aracılık eder (134).
2. Mitogen-activated protein kinase (MAPK) yolunun aktivasyonu: MAPK kaskatı ile; hücre farklılaşmasında, proliferasyonunda rol alır ve genelde proapoptotik etki gösterir (135).
3. Ölüm sinyali oluşturulması; TNF R1 aracılığıyla ölüm sinyali oluşturur fakat diğer antiapoptotik mekanizmalar bu etkinin gerçekleşmesini önler (136).

Spesifik ve nonspesifik biyolojik yanıtların aracısı olan TNF' ler immün ve inflamatuar reaksiyonlar arasında önemli bağlantılardır. Kontrolsüz aşırı sitokin üretimiyle ciddi katabolik etkilere (kaşeksi), doku hasarına ve ölüme neden olabilmesiyle iki uçlu bir kılıç olarak tanımlanabilir. Önce tümör nekrozu oluşturabilmedeki kapasiteleriyle tanımlanan TNF' lerin ciddi gram-negatif enfeksiyonlar sonrası görülen antitümör sitotoksisitesinde de aracı olabildikleri anlaşılmıştır. Gram-negatif bakteri LPS' lerine konak yanıtındaki temel aracı TNF-α'dır. Birçok biyolojik aktivitede (antiviral, antiparazitik, lipolitik, glikojenolitik,

osteoklastik) roller alır ve bunların bir kısmını IFN-γ ve IL-1 ile sinerjistik olarak gerçekleştirir. İnflamasyon ve iyileşmede geniş etkileri vardır, granülama oluşumunda, doku nekrozunda, fibroziste, şokta yer alırlar. Tümör nekroz faktörü-α yine IFN-γ ile birlikte immün yanıtın güçlü düzenleyicisidir, adezyon molekülleri ile diğer sitokinlerin (IL-1 ve IL-6) indüksiyonunda ve fagosit aktivasyonunda aracıdırlar. Fibroblastlar için büyüme faktörüdür ve akut faz yanıtının ana indükleyicisidir. IL-1 ile birlikte birçok hücre tipinin davranışını etkiler. Genellikle IL-1 toksik değildir, TNF-α ise güçlü bir sitotoksik efektördür (98, 137, 138). Tümör nekroz faktörünün biyolojik etkileri konsantrasyon bağımlıdır. Düşük konsantrasyonlarda (~1x10-9 mol/L) hasar ya da infeksiyon bölgesinden hızla salınmasıyla immünoinflamasyon için lokal parakrin ve otokrin düzenleyici olarak davranırlar. Tümör nekroz faktörü-α, nötrofiller ve endotelyal hücreleri adezyon için hazırlar ve lökosit göçü için yönlendirir. TNF-α aracılı fibroblast ve endotelyal hücre çoğalması yara iyileşmesinin en önemli basamaklarından biridir. Bu aktivitelerin büyük çoğunluğu TNF-α ile sinerjistik etki eden IL-1 tarafından güçlendirilir (98).

Düşük konsantrasyonlarda lokal TNF etkileri aşağıda sıralanmıştır:

1. Endotelyal hücrelerden adezyon moleküllerinin ekspresyonu (TNF' nin en önemli fizyolojik lokal etkisi olan inflamasyonun lokalize olduğu bölgede lökosit birikmesi),
2. Mikroorganizma ya da tümör hücrelerine karşı inflamatuar lökositlerin aktivasyonu (özellikle nötrofiller ama aynı zamanda eozinofiller ve mononüklear fagositler için),
3. Mononüklear fagositler ve diğer hücrelerce sitokin (IL-1, IL-6, TNF' nin kendisi) sentezinin uyarılması,
4. Virüslere karşı interferon benzeri koruyucu etkiler (98, 138).

Tümör nekroz faktörü-α orta konsantrasyonlarda, bir endokrin faktör gibi davrandığı dolaşıma katılır. Bu durumdaki etkileri aşağıda sıralanmıştır:

1. Endojen bir pirojen gibi davranışı (IL-1 ile birlikte) ve artmış prostaglandin (PG) sentezine aracılığı,
2. Mononüklear fagositler ve endotelyal hücrelerden dolaşıma IL-1 ve IL-6 salgılanmasının uyarılması,

3. İnterlökin-1 ve IL-6 ile birlikte karaciğerden akut faz proteinlerinin sentezinde artışa neden olması (IL-6 → fibrinojen, IL-1/TNF→serum amiloid protein),
4. Koagülasyon sisteminin aktivasyonu,
5. Kemik iliği kök hücre bölünmesinin baskılanması,
6. Kaşeksi (TNF ile indüklenen iştah baskılanmasıyla) (98, 138).

Gram-negatif bakteriyel sepsislerde TNF'ler yüksek konsantrasyonlarda (serum konsantrasyonları 10^{-7} mol/L'nin üzerindedir) üretilirler ve septik şokun karmaşık sitokin ağında kritik öneme sahip bir aracı olurlar. Çok yüksek konsantrasyonlardaki öldürücü etkileri aşağıda sıralanmıştır:

1. Miyokardial kontraktilitenin deprese edilmesiyle doku perfüzyonunda azalma (NO sentaz indüklenmesiyle NO üretiminin artması miyokardial kontraktiliteyi inhibe eder),
2. Vasküler düz kas tonusu relaksasyonuyla, kan basıncında ve doku perfüzyonunda azalma,
3. İntravasküler tromboz (endotelyal ve mononüklear fagosit değişikliklerinin kombinasyonunun koagülasyonuna yol açması ve nötrofil aktivasyonu-yaygın intravasküler koagülasyon),
4. Ciddi metabolik bozukluklar (yaşamla bağdaşmayacak düzeydeki kan glukoz düzeylerinde düşüklükler) (98, 138).

Bunların yanı sıra, TNF'nin apopitozda, adezyon, anjiogenezde, miyosit çoğalmasında, fibroziste, fagositozda, sitokin üretimi ve hücresel aktivasyonunda, lökosit/makrofaj fonksiyonlarında, inflamasyonda ve tümör kontrolünde birçok etkisi vardır (98).

Klinik olarak enfeksiyon/septik şok, otoimmün hastalıklar, inflamatuar/alerjik hastalıklar, endometriozis, serebral iskemi, akut pankreatit, nefropatiler, nörolojik bozukluklar, alkolik karaciğer hastalığı, transplant rejeksiyonunda klinik önemi gösterilen TNF'lerin, tümörler, inflamatuar hastalıklar/travma ve infeksiyon/septik şokta terapötik uygulamaları da mevcuttur (98, 137, 138).

Tümör nekroz faktörü-α mikroorganizmalara, özellikle gram negatif bakteri lipopolisakkaritlerine karşı geliştirilen immün yanıtta başlıca makrofajlar tarafından üretilmektedir. Monositler ve makrofajlar, TNF-α'nın temel kaynağıdır, ancak diğer hücre tiplerinin, özellikle T ve B lenfositlerin ve büyük granüler lenfositlerin, uyarılması sonucu TNF-α ürettiği gösterilmiştir. İnflamasyon gelişiminde, sitokinlerin uyarımında önemli rolü vardır (139).

Tümör nekroz faktörü geni, 3.6 kBp boyutunda olup insanda altıncı kromozomda, 6p21.1 ile 6p21.3 arasında MHC lokusünde yerleşmiştir (98). TNF lokusünde tanımlanmış birkaç önemli polimorfizm bulunmaktadır (140-142). Bunlar:

1- (CA)n sekansları
   *TNF a(15 allel)
2- (CT)n sekansları
   * TNF b(7 allel)
   * TNF c(2 allel)
   * TNF d(7 allel)
   * TNF e(4 allel)
3-Promoter bölge polimorfizmleri
   *-238 G→A değişimi (TNFA) het/homozigot
   *-244 G→A değişimi
   *-308 G→A değişimi (TNF1-2) het/homozigot
   *-376 G→A değişimi
4- Diğer nadir polimorfizmler
   *-49 G→A değişimi
   *-419 G→C inversiyonu
Lenfotoksin-α (LT-α) +250G→A değişimi (TNF B1-B2)
   *-1031, -863, -857, -228'de değişimler vardır.

Bunlar arasında LT-α +250 ve TNF-α -308 polimorfizmleri, bazal ve uyarılmış olarak artmış TNF-α üretimi ile ilişkili bulunmuştur. Bu nedenle birçok inflamatuar ve enfeksiyöz hastalığa yatkınlık ile bu polimorfizmler arasında ilişki kurulmaktadır (142).

2.4.7. Tümör Nekroz Faktör-α ile İlgili Yapılan Polimorfizm Çalışmaları

Birçok sitokinin promoter bölge polimorfizmlerinin sitokin düzeylerinde değişime yol açarak patolojik yanıta neden olduğu gösterilmiştir (85).

Tek nükleotid polimorfizmleri, tek baz değişiklikleri olup TNF-α promoter gen bölgesinde oldukça fazla görülmekte ve TNF-α sentezini etkilemektedirler. Örneğin; TNF-α promoter regulatuar sekansındaki -308 pozisyonundaki guanin (G) allelinin adenin (A) alleline değişimi TNF-α'nın transkripsiyonel aktivitesini artırmakta ve daha yüksek TNF-α düzeylerine neden olmaktadır (143). Kaluza ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada TNF-α 238 A allelinin, azalmış promoter aktivitesi ile ilişkili olduğunu ve farklı mitojen ve antijenlerle stimülasyonda azalmış TNF-α yanıtı ile ilişkili olduğunu saptamışlardır (144). Buna karşılık Reich ve arkadaşları ise, TNF-α 238 A allelini artmış TNF-α düzeyleri ile ilişkili bulmuşlardır (145). Homozigot TNF-α 857 CC genotipinin de daha yüksek TNF-α düzeyleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (146).

Tümör nekroz faktörü-α promoter gen bölgesindeki TNP'lerin aynı zamanda psoriasis, sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit, ankilozan spondilit gibi otoinflamatuvar hastalıklara yatkınlık ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (147).

Diabetes mellitus komplikasyonlarının etiyolojisi multifaktöryel olup bu komplikasyonların oluşumunda inflamasyonun önemli bir rolü vardır (148).

Tümör nekroz faktörü ve Lenfotoksin-α genlerindeki varyasyonların diyabetik nefropati, retinopati, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklarla bağlantılarının olduğu ortaya konulmuştur (149-152).

Diyabetik ayakta kronik düşük seviyede inflamasyon durumu ve uzamış inflamatuvar yanıt ile proinflamatuvar sitokinlerde (IL-1, IL-6 ve TNF-α) artış gözlenmektedir. Bu bilgiler ışığında bu çalışmada diyabet ve diyabetik ayak ülser gelişiminde pay sahibi olduğu düşünülen IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) sitokinlerinin belirtilen bölgelerindeki gen polimorfizmlerinin araştırılarak diyabetik

ayak enfeksiyonu oluşumu ve gelişimi üzerindeki etkilerinin araştırılması planlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Şekli

Bu araştırma, diyabetik ayak tanısı almış Tip 2 DM'li hastalarda IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) gen polimorfizmlerinin diyabetik ayak enfeksiyonu ile arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlayan prospektif vaka-kontrol çalışmasıdır.

3.2. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi

Araştırmanın evrenini, Mayıs 2019 – Eylül 2020 tarihleri arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji veya İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları kliniklerine başvuran toplam 207 birey oluşturmaktadır. 60 normal glukoz tolerası olan sağlıklı birey kontrol grubu (Grup 1), 60 diyabetik ayak ülseri olmayan Tip 2 diabetes mellituslu hasta (Grup 2) ve 87 diyabetik ayak enfeksiyonu ile izlenen Tip 2 diabetes mellituslu hasta (Grup 3) olmak üzere üç gruba ayrıldı.

Çalışmanın kontrol grubu, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji polikliniğine başvuran 18 yaşından büyük, diabetes mellitus tanısı ve kronik hastalığı olmayan bireylerden oluşturuldu.

Araştırmaya dahil edilme kriterleri:

Hasta Grubu:

- Tip 2 DM tanısı olması
- Hastanın 18 yaşından büyük olması
- Hastanın çalışmaya katılmayı kabul etmesi ve "Bilgilendirilmiş Onam Formu"nu okuyup imzalaması

Sağlıklı Kontrol Grubu:

- Diabetes mellitus tanısı olmaması
- Bireyin 18 yaşından büyük olması
- Kronik hastalığı olmaması
- Hastanın çalışmaya katılmayı kabul etmesi ve "Bilgilendirilmiş Onam Formu"nu okuyup imzalaması

Araştırmadan dışlanma kriterleri:

- Gebelik ve postpartum dönemdeki hastalar
- Bireyin 18 yaşından küçük olması
- Kronik karaciğer hastalığı olanlar
- Tedavi altındaki kanser hastaları
- Diyabetik ayak ülseri dışında aktif enfeksiyon hastalığı olanlar
- Akut veya kronik inflamatuar hastalığı olanlar
- Alkol ve madde bağımlılığı olanlar

3.3. Araştırmaya Katılanların Bilgilendirilmesi ve Onamı

Çalışmaya katılacak olan kişiler gönüllük esasına göre seçilerek, çalışmaya dahil olmak isteyenler araştırma hakkında bilgilendirildi. Bu amaçla bilgilendirilmiş gönüllü onam formu (Ek 1) okutularak yazılı onamları alındı.

3.4. Kullanılan Gereç ve Yöntemler

Çalışmaya dahil edilen hastaların Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında anamnezleri alındı ve fizik muayeneleri yapıldı. Çalışma için olgu formları hazırlandı. Hastalara ait klinik bilgiler hastalar ile görüşülerek hastaya ait olgu formuna kaydedildi. Hastalara ait diğer verilere hastanemiz bilgisayar sistemindeki kayıtlardan ulaşıldı. Elde edilen veriler hazırlanan olgu formlarına aktarıldı.

Olgu formlarına hastaların başvuru tarihleri, yaş, cinsiyet, meslek gibi demografik özellikleri ve diyabet süresi ile ilgili bilgiler alındı. Mevcut olan diğer hastalıkları, daha önce kullanmış ve halen kullanmakta olduğu tedaviler, sigara ve tütün kullanım durumları, kullandığı antidiyabetik ilaçlar da yazıldı.

Hastaların boy, vücut ağırlığı, vücut kütle indeksi gibi antropometrik verileri ölçüldü. Hastaların fizik muayene bulguları, sistolik ve diyastolik kan basınçları kaydedildi.

Tip 2 DM tanısı Amerikan Diyabet Cemiyeti kriterlerine göre koyuldu. Diyabetik ayak ülseri ve diyabetik ayak enfeksiyonu ile ilgili detaylı tanımlamalar yapıldı. Diyabetik ayak enfeksiyonu olan hastaların yara sınıflaması Uluslararası Diyabetik Ayak Çalışma Grubu tarafından yayınlanan uzlaşma raporunda uygulamaya giren PEDİS sınıflamasına göre kayıt altına alındı. Diyabetik ayak enfeksiyonu süresi, hastaneye yatış ve tekrarlayan ayak enfeksiyonu öyküleri, iskemi varlığı, son üç ay içerisinde antibiyotik kullanımları kaydedildi.

Periferik duyusal nöropati değerlendirmesi motor ve refleks muayenesi ve elektronöromiyografi ile yapıldı.

Periferik arter hastalığı ve venöz yetmezlik tanısı için doppler ultrasonografi tetkiği kullanıldı. Femoral, süperfisyal, popliteal, posterior tibial arter ve anterior tibial arterlerdeki aterosklerotik değişiklikler, obstrüksiyon ve stenoz değerlendirildi. Anlamlı stenozu olan hastalar kaydedildi. Anlamlı stenoza ait veriler hastaların doppler ultrasonografi raporlarından elde edildi.

Diyabetik ayak tanısı olan hastaların önceki ampütasyon öyküleri, amputasyon sayıları, debridman, HBOT ve VAC tedavileri yapılıp yapılmadığına dair veriler toplandı. Alt ekstremite bilgisayarlı tomografi anjiografi, ayak MRG raporları alındı.

Osteomiyelit tanısı klinik olarak veya direkt grafi, MRG, sintigrafi gibi görüntüleme yöntemleri ya da histopatoloji ile kondu. Oral veya intravenöz antibiyotik kullanımları kaydedildi.

Hastalardan elde edilen yumuşak doku örneklerinden rutin mikrobiyoloji laboratuvar uygulamaları ile etkenler izole edildi. Üreyen etkenlerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıkları yapıldı.

Ayrıca hastaların tam kan sayımı, CRP, ESH, HbA1c ve açlık kan şekeri, total kolesterol, LDL kolesterol, BUN, kreatinin biyokimyasal tetkikleri dahil edildi. Hastaların kan ve idrar tetkiki analizleri için Atatürk Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarlarının teknik alt yapısı kullanıldı.

IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) gen polimorfizmlerinin analizi için EDTA'lı tüplere 3-5 ml periferik venöz kan örneği alındı. Kan örnekleri analiz yapılacağı güne kadar -80 ^{0} C'de saklandı. IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) gen polimorfizmlerinin analizi Atatürk Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarlarının teknik alt yapısı kullanılarak çalışıldı.

IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) gen polimorfizmlerinin analiz çalışmasında gerekli malzemelerin temini için Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi'ne başvuruldu. Projemiz 09.03.2020 tarihinde komisyon tarafından kabul edildi (Proje Kodu: TTU-2020-7424).

3.4.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

DNA izolasyonu:

- GeneJET kandan DNA izolasyon kiti (ThermoFisher)
- Etanol (Sigma)

Real-time PCR

Polimorfizm çalışmaları:

- Taqman SNP Genotyping Assay (rs1800795) IL-6 (-174 G>C) Kit (ThermoFisher)(40X konsantrasyon= 40 katına çıkarıldı)
- Taqman SNP Genotyping Assay (rs361525) TNF- α (-238 G>A) Kit (ThermoFisher)(40X konsantrasyon= 40 katına çıkarıldı)
- TaqMan™ Genotyping Master Mix Kit 10 ml (ThermoFisher)(2X konsantrasyon= 2 katına çıkarıldı)

Kullanılan Alet ve Cihazlar

- Thermal cycler (Bioer XP Cycler)
- Real Time PCR cihazı (Q RotorGene)
- Buzdolabı (Arçelik 26775)
- Derin dondurucu(-80) (Panasonic)
- Vorteks (Biosan)

- Otomatik pipetler 0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl (Orange Scientific, Eppendorf Research plus)

- Mikropipet uçları 0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl (Labtips)

- 0,5 ml, 1,5 ml, 2 ml'lik ependorf tüpü (Axygen)

- -0,1 ml Strip Tubes (Qiagen)

- Santrifüj tüpü

3.5. Yöntem

3.5.1. Kandan DNA İzolasyonu

Genomik DNA'nın tüm kandan elde edilmesinde ThermoFisher GeneJET DNA-mini kit ile izolasyon prosedürü uygulanmıştır.

Ön Hazırlıklar: İzolasyona başlamadan önce Buffer WB'ye 80 ml etanol eklendi. Bu arada, bir pipet yardımıyla 5.5 ml proteaz solvent içeriği, cam şişe içerisindeki liyofize proteaz içerisine eklendi. Örneklerden DNA izolasyon çalışmasına başlarken, ısı bloğu 56°C'ye ayarlanıp örnek sayısı kadar ependorf tüpleri numaralandırıldı. O günkü çalışmada kullanılacak örnek kadar spin kolon çıkarıldı. Örnekler vortexlenip, pipet uçları hazırlandı.

İzolasyon:

1. 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne kan örneklerin her birisinden 200 µl alınarak ependorflara aktarıldı.

2. Örneklerin üzerlerine 20 µl proteinaz K ve 5 µl RNAse A solüsyonu eklendi. Pipetaj ve pulse vortex yapıldı.

3. Örneklerin üzerlerine 200'er µl Buffer Lysis (BL) eklendi. Ependorfların kapakları kapatılıp, 15'er sn vortexlenip, spin santrifüj yapıldı ve 2 dk oda sıcaklığında bekletildi.

4. Santrifüjlenen örnekler, ısı bloğunda (56°C'de), 10 dk inkübasyona bırakıldı. Kısa santrifüj yapıldı.

5. Isı bloğundan alınan örneklerin üzerlerine % 99 etanol'den 200 µl ilave edildi. Vortex ve spin santrifüj yapıldı.

6. Daha sonra, ependorflardaki karışımların tamamı spin kolonlara dikkatli bir şekilde aktarıldı. Tüm spin kolonlar, 13.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.

7. Bu sırada yeni boş toplama tüpleri dizildi. Spin kolonların alt kısımları atılıp, üstteki filtreler boş toplama tüplerine (2 ml) yerleştirildi.

8. Buffer WA'den 700 µl filtre kısımlarına eklenip, 13.000 rpm'de 1 dk santrifüjlendi. Santrifüjden çıkan tüplerin alt kısımları atılıp, üstteki filtreler yeni boş toplama tüplerine yerleştirildi.

9. Filtre kısımlarının üzerlerine 700'er µl Buffer WB eklendi. Tüm spin kolonlar, 13.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.

10. Bu sırada yeni boş toplama tüpleri dizildi. Spin kolonların alt kısımları atılıp, üstteki filtreler boş spin kolonlara alındı. Tüm spin kolonlar, 13.000 rpm'de 1 dk daha santrifüj edildi.

11. Bu sırada yeni boş ependorf'lar hazırlanıp (1,5 µl), santrifüjden çıkarılan tüplerin altındaki toplama tüpleri atıldıktan sonra, yeni ependorflara filtre kısımları yerleştirildi. Tüplerin filtre kısımlarına 50 µl Buffer CE ilave edildi.

12. Bir dakikalık oda sıcaklığında bekleme süresinin ardından tüm ependorflar, (kapakları içe gelecek şekilde) santrifüje yerleştirilip, 13.000 rpm'de 1 dk santrifüjlendi. Yapılan bu son santrifüj işleminden sonra bu kez üst (filtre) kısımları atılıp, alttaki sıvı içeren ependorfların kapakları kapatıldı. Örnekler NanoDrop ölçüm anına kadar -20°C'de muhafaza edildi.

3.5.2. NanoDrop DNA Konsantrasyonunun Kantitatif Ölçümü

İzole edilen DNA'lar genomik DNA konsantrasyonunun ve saflığın ölçümü için Tıbbı Genetik Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan NanoDrop cihazı kullanılarak DNA için spektrum aralığı 260 nm ve protein için 280 nm dalga boylarında absorbans değerleri ölçüldü. 260 nm dalga boyunda okunan absorbans değerlerinden, örneklerdeki DNA konsantrasyonu hesaplandı. 260 nm optical density (OD) ölçümünün 280 nm OD ölçümüne oranı, DNA'mızın protein ya da RNA ile kontamine olup olmadığı hakkında bilgi verir. A260/A280 oranının 1,8 ile 2,0 arasında olması beklenir. OD değerinin 2,0'nin üzerinde olması RNA kontaminasyonuna, 1,8'in altında olması da protein kontaminasyonuna işaret eder. PCR sonuçlarının sağlıklı çıkması için DNA'ların uygun saflıkta olması gerekmektedir. Her bir örnek için kontrol amaçlı 2 defa okuma yapılmış olup, bu yöntemle DNA örneklerinin saflığı kontrol edildi ve miktarı saptandı. DNA konsantrasyonu düşük bulunan örneklerde, istenilen değere ulaşılıncaya kadar, kan örneklerinden DNA elde etme işlemleri tekrarlandı.

3.5.3. Polimorfizm Çalışmaları

Literatürde önceden tanımlanmış tek nükleotid polimorfizmlerinden IL-6 (-174 G>C) (rs1800795) ve TNF-α (-238 G>A) (rs361525) polimorfizmleri, Rotor-Gene Q real-time PCR cihazında çalışıldı. Cihazın yazılımı ile örneklerin genotipleri belirlendi.

3.5.3.1. IL-6 (-174 G>C) Polimorfizminin Belirlenmesi Çalışması

Primer/ prob miks, Taqman SNP Genotyping Assay (rs1800795) IL-6 (-174 G>C) Kit (ThermoFisher) adı altında tasarlanıp, valide edilmiştir. Öncelikle 40X olan primer /prob miksi 1/1 oranında dilue edildi ve çalışma için gerekli 20X konsantrasyona ulaşıldı. Çalışmadaki her bir örnek için aşağıda belirtildiği gibi 25 µl'lik PCR içeriği olacak şekilde hesaplanarak (25X örnek sayısı) toplam PCR içeriği hazırlandı. Her bir örnek için hazırlanan 0,2 ml'lik PCR tüplerine pipetlendi. Örnek tüpleri, Rotor Gene Q cihazına yüklendi ve aşağıda belirtilen PCR programı çalıştırıldı. Sonuçlar PCR cihazı yazılımı ile analiz edildi.

PCR İçeriği:

2X konsantrasyonda Master miks 12,5 µl'
20X konsantrasyonda Primer/prob miks 1.25 µl'
RNaz içermeyen su 8.25 µl'
DNA örneği 3 µl'
Toplam hacim 25 µl

Real-Time PCR programı

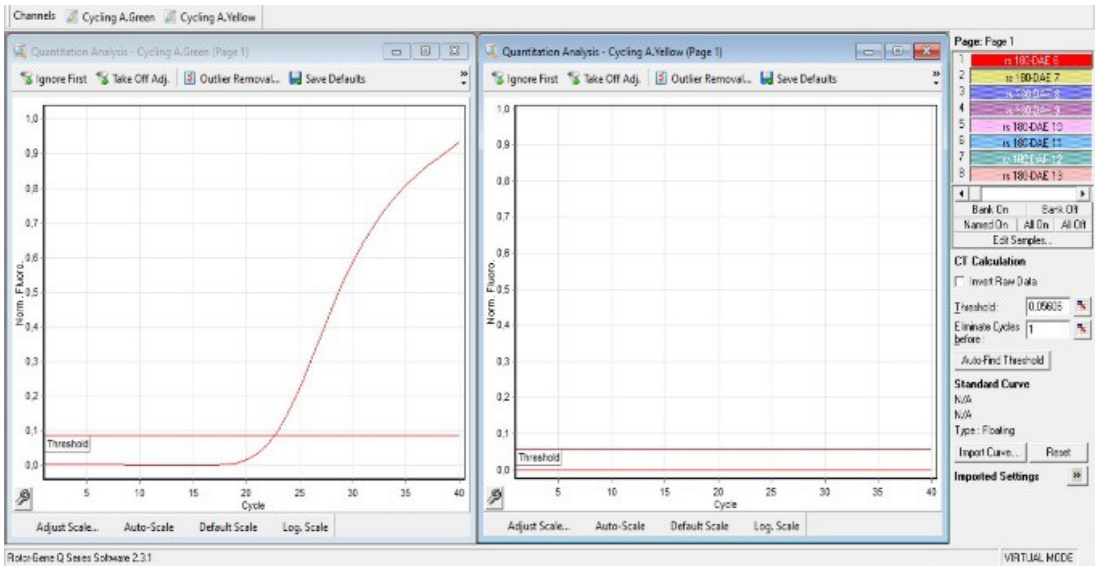
Program 1 (başlangıç denatürasyonu): 95 ^{O}C'de 10 dakika

Program 2 (denatürasyon): 95^{O}C'de 15 saniye 40 siklus
Program 3 (bağlanma/uzama): 60^{O}C'de 1 dakika
(okuma: Green(FAM), Yellow(VIC))

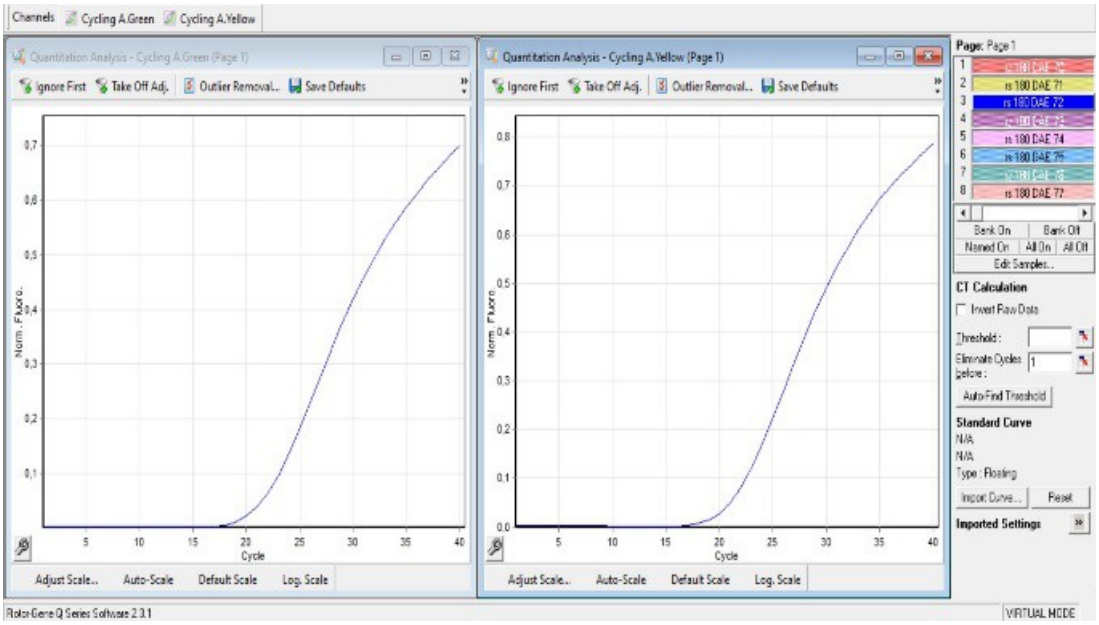
Sonuçların Analizi

Wild prob FAM(green) kanalında, mutant prob ise VIC(yellow) kanalında okunmak üzere etiketlenmiştir. Genotip wild ise sadece FAM kanalında amplifikasyon eğrisi görülür. Mutant genotipte ise sadece VIC kanalında amplifikasyon eğrisi görülür. Heterozigot genotipte ise her iki kanalda (FAM ve VIC) amplifikasyon görülür.

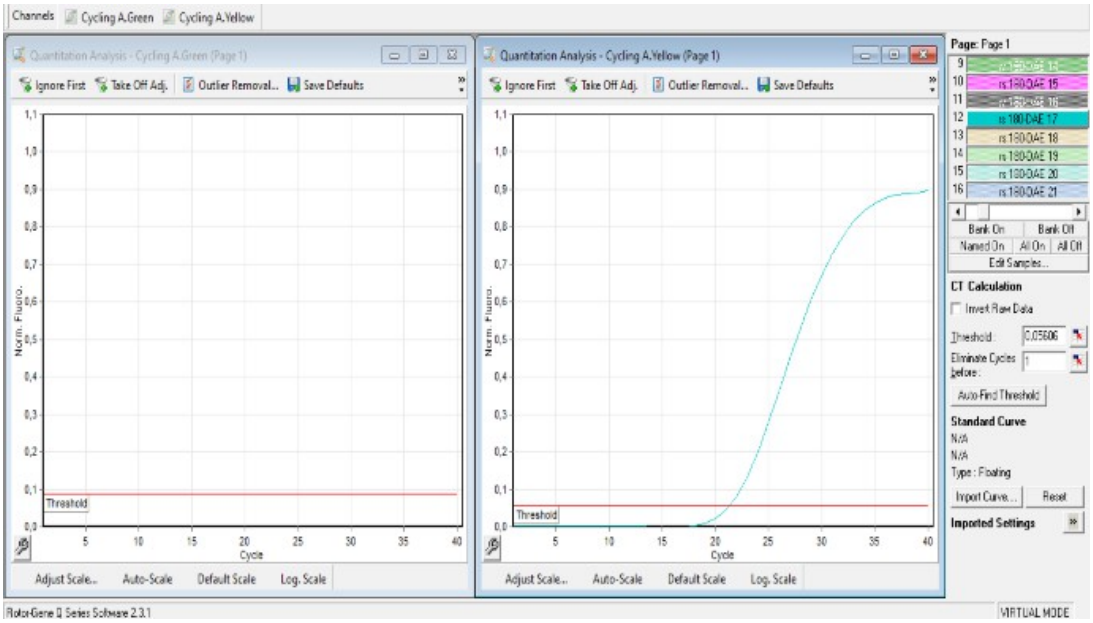
IL-6 (-174 G>C) polimorfizmi için; GG homozigot wild (doğal) tip, GC heterozigot, CC homozigot mutant tip olarak belirlendi. Kanallardan alınan amplifikasyon bilgileriyle örneklerin genotipleri belirlendi.



Şekil 12. Örneklerin IL-6 (-174 G>C) Polimorfizmi İçin GG Homozigot Wild Tip Analiz Görünümü



Şekil 13. Örneklerin IL-6 (-174 G>C) Polimorfizmi İçin GC Heterozigot Analiz Görünümü



Şekil 14. Örneklerin IL-6 (-174 G>C) Polimorfizmi İçin CC Homozigot Mutant Tip Analiz Görünümü

3.5.3.2. TNF- α (-238 G>A) Polimorfizminin Belirlenmesi Çalışması

Primer/ prob miks, Taqman SNP Genotyping Assay (rs361525) TNF-α (-238 G>A) Kit (ThermoFisher) adı altında tasarlanıp, valide edilmiştir. Öncelikle 40X olan primer /prob miksi 1/1 oranında dilue edildi ve çalışma için gerekli 20X konsantrasyona ulaşıldı. Çalışmadaki her bir örnek için aşağıda belirtildiği gibi 25 µl'lik PCR içeriği olacak şekilde hesaplanarak (25X örnek sayısı) toplam PCR içeriği hazırlandı. Her bir örnek için hazırlanan 0,2 ml'lik PCR tüplerine pipetlendi. Örnek tüpleri, Rotor Gene Q cihazına yüklendi ve aşağıda belirtilen PCR programı çalıştırıldı. Sonuçlar PCR cihazının yazılımı ile analiz edildi.

PCR İçeriği:

2X Master miks 12.5 µl'
20X Primer/prob miks 1.25 µl'
RNaz içermeyen su 8.25 µl'
DNA örneği 3 µl'
Toplam hacim 25 µl

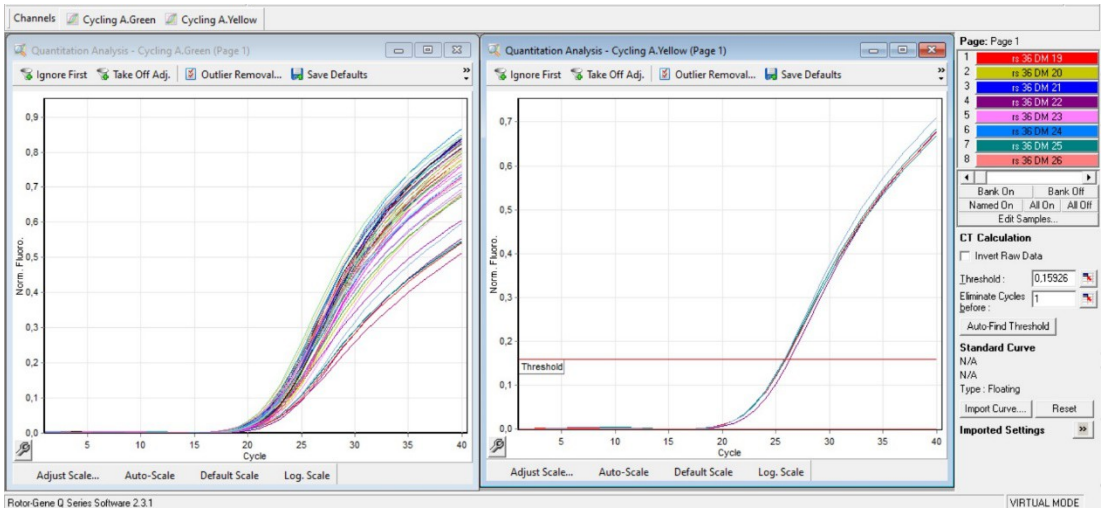
Real-Time PCR programı

Program 1 (başlangıç denatürasyonu): 95 ^{O}C'de 10 dakika
Program 2 (denatürasyon): 95^{O}C'de 15 saniye 40 siklus
Program 3 (bağlanma/uzama): 60^{O}C'de 1 dakika
(okuma: Green(FAM), Yellow(VIC))

Sonuçların Analizi

Wild prob FAM(green) kanalında, mutant prob ise VIC(yellow) kanalında okunmak üzere etiketlenmiştir. Genotip wild ise sadece FAM kanalında amplifikasyon eğrisi görülür. Mutant genotipte ise sadece VIC kanalında amplifikasyon eğrisi görülür. Heterozigot genotipte ise her iki kanalda (FAM ve VIC) amplifikasyon görülür.

TNF-α (-238 G>A) polimorfizmi için; GG homozigot wild (doğal) tip, GA heterozigot, AA homozigot mutant tip olarak belirlendi. Kanallardan alınan amplifikasyon bilgileriyle örneklerin genotipleri belirlendi.



Şekil 15. Örneklerin TNF-α (-238 G>A) Polimorfizmi İçin Analiz Görünümü

3.6. Araştırmanın Etik Yönü

Çalışma için Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı. (Onay tarihi: 30/05/2019, karar sayı: B.30.2.ATA.0.01.00/325).

3.7. İstatistiksel Analiz

Araştırma verilerinin analizinde Statistical Package for the Social Sciences (SPSS v20) programı kullanıldı. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde, numerik değişkenler ise ortalama ve standart sapma olarak sunuldu. Numerik değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmorov Smirnov Testi, çarpıklık ve basıklık için hesaplanan z değerleri, grafikleme yöntemleri ile araştırıldı. Sayısal değişkenlerin iki bağımsız grup arasındaki karşılaştırmalarında T testi ve gerekli durumlarda Mann-Whitney U testi, varyans analizlerinde ise ANOVA ve gerekli durumlarda Kruskal Wallis testi kullanıldı. Post-hoc analizlerde Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U, kategorik değişkenler arası ilişkilerin araştırılmasında ise χ^2 testlerinden yararlanıldı. Tüm analizlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma Gruplarının Demografik, Antropometrik Veriler ve Laboratuvar Sonuçları

Bu çalışmaya Mayıs 2019 – Eylül 2020 tarihleri arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran 60 sağlıklı birey kontrol grubu (Grup 1), 60 diyabetik ayak ülseri olmayan Tip 2 DM'li hasta (Grup 2) ve 87 DAE ile izlenen Tip 2 diabetes mellituslu hasta (Grup 3) olmak üzere toplam 207 gönüllü dahil edildi. 207 bireyin tanılarına göre dağılımları şekil 16'da verilmiştir.

Şekil 16. Sağlıklı, DM ve DAE Tanılarına Göre Gruplandırılması

Grup 1'deki bireylerin 28'i (%46.7) kadın, 32'si (%53.3) erkek, grup 2'deki hastaların 39'u (%65.0) kadın, 21'i (%35.0) erkekti. Grup 3'teki hastaların ise 21'i (%24.1) kadın, 66'sı (%75.9) erkek olduğu görüldü. Her üç grupta cinsiyet dağılımları arasında anlamlı fark vardı ($p<0.001$). Grup 1'de yaş ortalaması 42.3±14.5 yıl, grup 2'de 56.3±14.0 yıl, grup 3'te 60.0±10.1 yıl olarak bulundu. Grup 1 ve grup 2 arasında ($p<0.001$), grup 1 ve grup 3 arasında ($p<0.001$) yaş ortalaması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. Grup 2 ve grup 3 arasında yaş ortalamaları benzerdi ($p=0.191$).

Vücut kütle indeksi (VKİ) ortalaması grup 2'de 28.7±5.1 kg/m^2 ve grup 3'te 27.6±3.6 kg/m^2 olarak tespit edildi. Grup 2 ve grup 3 arasında VKİ ortalamaları dağılımları istatistiksel olarak benzerdi ($p=0.233$).

Sigara kullanım oranının grup 1'de %20.0, grup 2'de %28.3 ve grup 3'te %34.5 olduğu görüldü. Gruplar arasında sigara kullanım oranının dağılımları benzerdir ($p=0.161$). Sistolik kan basıncı ortalaması grup 1'de 106.5±9.9 mmHg, grup 2'de 116.5±10.7 mmHg ve grup 3'te ise 119.7±14.0 mmHg olarak bulundu. Grup 1 ve grup 2 arasında ($p<0.001$), grup 1 ve grup 3 arasında ($p<0.001$) sistolik kan basıncı ortalaması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. Grup 2

ve grup 3'lerin sistolik kan basıncı ortalamaları benzerdi (p=0.191). Grup 1'de diyastolik kan basıncı ortalamasının 61.2±6.7 mmHg, grup 2'de 70.3±7.8 mmHg, grup 3'te 72.4±9.9 mmHg olduğu görüldü. Grup 1 ve grup 2 arasında (p<0.001), grup 1 ve grup 3 arasında (p<0.001) diyastolik kan basıncı ortalaması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Grup 2 ve grup 3'lerin diyastolik kan basıncı ortalamaları benzerdi (p=0.191).

Eğitim düzeyine bakıldığında grup 1'deki bireylerin 13'ü (%21.7) ilkokul mezunu, 32'si (%53.3) ortaokul-lise mezunu, 15'i (%25.0) üniversite mezunu idi. Grup 2'deki hastaların 16'sı (%35.0) ilkokul mezunu, 41'i (%68.3) ortaokul-lise mezunu, üçü (%5.0) üniversite mezunu, grup 3'teki hastaların 22'si (%25.3) ilkokul mezunu, 61'i (%70.1) ortaokul-lise mezunu, dördü (%4.6) üniversite mezunu olduğu görüldü. Her üç grupta eğitim düzeyi dağılımları arasında anlamlı fark vardı (p<0.001).

Çalışma durumuna bakıldığında grup 1'deki bireylerin 22'si (%36.7) çalışmıyor, 38'i (%63.3) çalışıyor, grup 2'deki hastaların 40'ı (%66.7) çalışmıyor, 20'si (%33.3) çalışıyor idi. Grup 3'teki hastaların ise 48'i (%55.2) çalışmıyor, 39'u (%44.8) çalışıyor olduğu görüldü. Grupların çalışma durumu dağılımları anlamlı düzeyde farklı bulundu (p=0.002).

Grup 1'deki bireylerin hepsinin kentte yaşadığı görüldü. Grup 2'deki hastaların 22'si (%36.7) kırsalda, 38'inin (%63.3) kentte, grup 3'teki hastaların ise 49'u (%56.3) kırsalda, 38'inin (%43.7) kentte yaşıyor idi. Grup 2 ve grup 3 arasında yaşanılan yer açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (p=0.019).

Diyabet süresi grup 2'de 10.3±7.8 yıl, grup 3'te ise 13.7±6.5 yıl idi. Grup 2 ve grup 3 arasında diyabet süresi dağılımları anlamlı düzeyde farklı bulundu (p=0.001). Gruplarda antidiyabetik ilaç kullanımı incelendiğinde grup 2'deki hastaların 16'sı (%26.7) OAD, 18'i (%30.0) insülin, 26'sı (%43.3) hem insülin, hem OAD ilaç kullanmaktaydı. Grup 3'teki hastaların ise 14'ü (%16.1) OAD, 52'si (%59.8) insülin, 21'i (%24.1) hem insülin, hem OAD ilaç kullanmaktaydı. Sonuç istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0.002).

Grup 2'deki hastaların %1.7'sinde (n=1), grup 3'tekilerin %17.2'sinde (n=15) KRY vardı. Grup 2 ve grup 3 arasında KRY dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (p=0.003).

Koroner arter hastalığı sıklığı grup 2'de %28.3 (n=17), grup 3'te %40.2 (n=35) olduğu saptandı, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0.138).

Grup 2'deki hastaların %36.7'sinde (n=22), grup 3'tekilerin %44.8'inde (n=39) hipertansiyon tanısı vardı. İki grup arasında HT dağılımları benzer tespit edildi (p=0.324). Çalışmaya katılan grupların demografik ve klinik özellikleri Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. Çalışmaya Katılan Grupların Demografik, Antropometrik Veriler ve Klinik Özellikleri

	Grup 1 n (%) / ortalama±SD	**Grup 2 n (%) / ortalama±SD**	**Grup 3 n (%) / ortalama±SD**	***P***
Cinsiyet (kadın / erkek) (sayı)	28/32	39/21	21/66	**<0.001**
Yaş (yıl)	42.3±14.5	56.3±14.0	60.0±10.1	**<0.001**
VKİ (kg/m ^{2})	-	28.7±5.1	27.6±3.6	>0.05
Sigara kullanımı	12 (20.0)	17 (28.3)	30 (34.5)	>0.05
Sistolik kan basıncı (mmHg)	106.5±9.9	116±10.7	119.7±14.0	**<0.001**
Diyastolik kan basıncı (mmHg)	61.2±6.7	70.3±7.8	72.4±9.9	**<0.001**
Yaşadığı yer				
Kırsal(köy+ilçe)	-	22 (36.7)	49 (56.3)	**0.019**
Kent	60 (100.0)	38 (63.3)	38 (43.7)	
Eğitim düzeyi				
İlkokul	13 (21.7)	16 (26.7)	22 (25.3)	**0.001**
Ortaokul/Lise	32 (53.3)	41 (68.3)	61 (70.1)	
Üniversite	15 (25.0)	3 (5.0)	4 (4.6)	
Meslek				
Çalışıyor	38 (63.3)	20 (33.3)	39 (44.8)	**0.002**
Çalışmıyor	22 (36.7)	40 (66.7)	48 (55.2)	
Diyabet süresi (yıl)	-	10.3±7.8	13.7±6.5	**0.001**
Kullandığı antidiyabetik ilaçlar				
OAD	-	16 (26.7)	14 (16.1)	**0.002**
İnsülin	-	18 (30.0)	52 (59.8)	
OAD + insülin	-	26 (43.3)	21 (24.1)	
KRY varlığı	-	1 (1.7)	15 (17.2)	**0.003**
KAH varlığı	-	17 (28.3)	35 (40.2)	>0.05
HT varlığı	-	22 (36.7)	39 (44.8)	>0.05

SD, standart deviasyon; n,hasta sayısı; VKİ, vücut kütle indeksi; OAD, oral antidiyabetik; KRY, kronik renal yetmezlik; KAH, kronik arter hastalığı; HT, hipertansiyon

Hastaların başvuru anındaki laboratuvar değerleri incelendi. Beyaz küre ortalaması grup 2'de 7924±1816.9/mm^3, grup 3'te 10876±4851.5/mm^3 olarak tespit edildi. Hemoglobin ortalaması grup 2'de 14.0±2.0 g/dL, grup 3'te 12.1±2.2 g/ dL olarak bulundu. Trombosit ortalaması grup 2'de 267483.3±80741.2/mm^3, grup 3'te ise 321126.4±94144.6/mm^3 olarak saptandı. Eritrosit sedimentasyon hızı grup 2'de 14.1±15.6 mm/saat, grup 3'te 61.0±31.3 mm/saat olduğu görüldü. Albümin ortalama değeri grup 2'de 4.0±0.4 g/dL, grup 3'te ise 3.0±0.5 g/dL idi. Grup 2'de total kolesterol ortalaması 201.9±54.1 mg/ dL, grup 3'te 165.8±46.4 mg/dL idi. LDL-kolesterol ortalamasının grup 2'de 131.5±39.3 mg/ dL, grup 3'te ise 107.3±31.4 mg/dL olduğu görüldü. Gruplar arasında beyaz küre, hemoglobin, trombosit, total

kolesterol, LDL-kolesterol, albümin, ESH ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (p<0.001).

Grup 2'de AST ortalaması 20.2±10.8 U/L, grup 3'te 23.4±14.9 U/L idi. ALT ortalaması grup 2'de 20.4±12.1 U/L, grup 3'te 19.8±11.6 U/L olarak saptandı. Hastaların HbA1c değerleri açısından grup 2'de % 9.9±2.2, grup 3'te ise % 9.6±2.3 olduğu bulundu. Gruplar arasında AST, ALT ve HbA1c ortalamaları arasında anlamlı fark olmadığı tespit edildi (sırasıyla p=0.773, p=0.131, p=0.372).

Hastaların CRP medyan değerlerine bakıldığında grup 2'de 4.0 (3.0-9.0) mg/L, grup 3'te ise 50.0 (14.0-129.0) mg/L olduğu görüldü. Grup 2'de BUN değeri 15.4 (11.7-21.0) mg/dL, grup 3'te BUN değeri 26.0 (17.0-40.0) mg/dL idi. Kreatinin değeri grup 2'de 0.8 (0.7-0.9) mg/dL, grup 3'te ise 1.1 (0.8-1.5) olduğu saptandı. Gruplar arasında CRP, BUN, kreatinin dağılımları açısından fark anlamlıydı (p<0.001). Laboratuvar değerleri Tablo 11'de gösterilmiştir.

Tablo 11. Çalışmaya Katılan Grupların Başvuru Anındaki Laboratuvar Bulguları

Laboratuvar Paremetreleri	**Grup 2 ortalama±SD / medyan (Q_1-Q_3)**	**Grup 3 ortalama±SD / medyan (Q_1-Q_3)**	***P***
WBC (/mm^3)	7924.5±1816.9	10876.3±4851.5	**<0.001**
Hemoglobin (g/dL)	14.0±2.0	12.1±2.2	**<0.001**
Trombosit (/mm^3)	267483.3±80741.2	321126.4±94144.6	**<0.001**
AST (U/L) (0-35)	20.2±10.8	23.4±14.9	>0.05
ALT (U/L) (0-35)	20.4±12.1	19.8±11.6	>0.05
ESH (mm/saat) (<15)	14.1±15.6	61.0±31.3	**<0.001**
Albümin (g/dL)	4.0±0.4	3.0±0.5	**<0.001**
HbA1c (%) (4.8–5.9)	9.9±2.2	9.6±2.3	>0.05
Total kolesterol (mg/dL) (<200)	201.9±54.1	165.8±46.4	**<0.001**
LDL-kolesterol (mg/dL) (<130)	131.5±39.3	107.3±31.4	**<0.001**
BUN (mg/dL)	15.4 (11.7-21.0)	26.0 (17.0-40.0)	**<0.001**
Kreatinin (mg/dL) (0,5-0,9)	0.8 (0.7-0.9)	1.1 (0.8-1.5)	**<0.001**
CRP (mg/L) (0-5)	4.0 (3.0-9.0)	50.0 (14.0-129.0)	**<0.001**

SD, standart deviasyon; WBC, total beyaz küre sayısı, ESH, eritrosit sedimentasyon hızı; HbA1c, hemoglobinA1c; LDL, low density lipoprotein; BUN, blood urea nitrogen; CRP, C-reaktif protein

Çalışmaya alınan 87 DAE tanısıyla takip edilen grup 3 hastalarının klinik özellikleri incelendiğinde 57(%65.5)'sinde son üç ay içerisinde antibiyotik kullanım

öyküsü mevcuttu. En çok ayaktan kullanılan antibiyotik amoksisilin klavulonit asit idi.

Grup 3 DAE hastalarının 33(%37.9)'ünde periferik arter hastalığı, 24(%27.6)'ünde periferik venöz yetmezlik (PVY) saptandı. Periferik duyusal nöropati ise 44(%50.6) hastada tespit edildi.

87 DAE hastasının 27(%31)'sinde geçmişte amputasyon yapılma öyküsü vardı. Bu hastaların 23(%26.4)'ünde minör ampütasyon, dördünde(%4.6) majör ampütasyon yapılmıştı.

Hastaların diyabetik ayak enfeksiyonlarının ne kadar süredir devam ettiği incelendiğinde ortalama süre 62.9±81.8 gün olarak bulunmuştur.

Hastaların 41(%47.1)'inde sağ ekstemitede, 34(%39.1)'ünde sol ekstremitede ve 12(%13.8)'sinde her iki ekstremitede lezyonlar vardı. Başvuruda en sık yara lokalizasyonu başparmak 27(%31.0) idi. Diyabetik ayak yaralarının başlangıç lokalizasyonları Tablo 12'de gösterilmiştir.

PEDİS sınıflamasında grade 2, 3 ve 4 olan hastaların sayıları sırasıyla 28 (%32.2), 54 (%62.1) ve beş (%5.7) olarak bulundu. Çalışmamıza enfeksiyonu olan hastaların dahil edilmesi nedeniyle grade 1 hasta yoktu. Hastaların büyük çoğunluğunun PEDİS grade 2/3 olduğu tespit edildi. Aktif osteomiyeliti olan 37 (%42.5) hasta vardı. Diyabetik ayak enfeksiyonu tanısı ile izlenen hastaların özellikleri Tablo 12'de gösterilmiştir.

Verilen medikal tedaviler incelendiğinde en çok intravenöz tek antibiyotik kullanımının olduğu gözlendi. En çok kullanılan antibiyotik tedavisi 37(%42.5) hasta ile ampisilin-sulbaktam idi.

Çalışmaya alınan DAE'li hastalara cerrahi girişim uygulandı. 87 hastanın 66(%75.9)'sına debridman, 24(%27.6)'üne amputasyon uygulandı. Amputasyon uygulananların 17(%19.5)'si parmak amputasyonu, dördü(%4.6) ayak amputasyonu,

biri(%1.1) topuk ampütasyonu ve ikisi(%2.3) diz altı ampütasyonu idi (Tablo 13). 13(%14.9) hastanın tedavisinde HBOT vardı.

Takiplerde çalışmaya alınan 16(%18.4) hastada tekrarlayan ayak enfeksiyonu gözlendi. Sekiz(%9.2) hastada tekrarlayan cerrahi girişim ampütasyon mevcuttu. Yedi(%8.0) hasta takipten çıktı, altı(%6.9) hasta tedaviyi reddetti. Hastalardan üçü(%3.4) kaybedildi. Diyabetik ayak enfeksiyonu tanılı hastaların tedavi yönetimi Tablo 13'te gösterilmiştir.

Tablo 12. Diyabetik Ayak Enfeksiyonu Olan Hastaların Özellikleri

		Hasta sayısı (n)	%
Son üç ayda antibiyotik kullanımı varlığı		57	65.5
Periferik arter hastalığı varlığı		33	37.9
Periferik venöz yetmezlik varlığı		24	27.6
Periferik nöropati		44	50.6
Geçirilmiş amputasyon öyküsü	Yok	60	69.0
	Minör	23	26.4
	Majör	4	4.6
DAE'nin bulunduğu extremite	Sağ	41	47.1
	Sol	34	39.1
	Her iki extremite	12	13.8
DAE başlangıç lokalizasyonu	Ayak tabanı	10	11.5
	Başparmak	27	31.0
	Diğer parmaklar	22	25.3
	Topuk	8	9.2
	Metatars	4	4.6
	Ayak dorsumu	6	6.9
	Güdük yeri	3	3.4
	Ayak laterali	3	3.4
	Ayak bileği	4	4.6
PEDİS sınıflaması	Grade 2	28	32.2
	Grade 3	54	62.1
	Grade 4	5	5.7
Osteomiyelit varlığı		37	42.5

Tablo 13. Diyabetik Ayak Enfeksiyonu Tanılı Hastaların Tedavi Yönetimi ve Hasta Sonlanımları

		Hasta sayısı (n)	%
Medikal tedavi	Oral tek antibiyotik	19	21.8
	Oral kombine antibiyotik	2	2.3
	IV tek antibiyotik	51	58.6
	IV kombine antibiyotik	15	17.2
Tedavide debridman		66	75.9
Tedavide HBOT		13	14.9
Tedavide amputasyon ve seviyeleri	Yok	63	72.4
	Parmak amputasyonu	17	19.5
	Ayak amputasyonu	4	4.6
	Topuk amputasyonu	1	1.1
	Diz altı amputasyon	2	2.3
Hasta sonlanımları	İyileşme	47	54.0
	Tekrarlayan enfeksiyon	16	18.4
	Tekrarlayan cerrahi girişim	8	9.2
	Takipten çıkış	7	8.0
	Tedaviyi reddetme	6	6.9
	Exitus	3	3.4

Iv, intravenöz; HBOT, hiperbarik oksijen tedavisi

Diyabetik ayak enfeksiyonu olan 87 hastadan başvuru sırasında yumuşak doku kültürleri alındı. 11 hastada polimikrobiyal üreme oldu. Yumuşak doku kültürlerinde gram negatif etkenler baskındı. Etkenlerin 30 (%52.7)'u gram negatif bakteri, 27 (%47.3)'si gram pozitif bakteri idi. Hastalardan en sık izole edilen etkenler *E.coli* (%17.5) ve koagülaz negatif stafilokok (KNS) (%17.5) idi. İkinci en sık etken *Klebsiella pneumoniae* (%14.0), üçüncü en sık etken *Staphylococcus aureus* (%12.2) idi. Toplam 30 gram negatif etkenin ilk üç sırada sırasıyla 10 (%33.3) *E.coli,* sekiz (%26.6) *Klebsiella pneumoniae* ve üç (%10) *Proteus spp.* izole edildi. Toplam 27 gram pozitif etkenin 10(%37.0)'u KNS, altısı(%22.2) *Staphylococcus aureus*, altısı(%22.2) *Enterococcus spp.* ve dördü(14.8) *Streptococcus spp.* idi. Toplam 17 adet stafilokok suşu vardı. Bunların 10'u KNS, yedisi *S.aureus* idi. Toplam yedi adet *S.aureus* suşunun bir tanesi metisiline dirençli idi. Toplam 10 adet Koagülaz negatif stafilokokların ise sekizi metisiline dirençliydi. Vankomisin dirençli enterokok saptanmadı. PEDİS sınıflamasına göre mikroorganizmların dağılımı Tablo 14'te gösterilmiştir.

PEDİS sınıflamasına göre gram pozitif ve negatif bakteri izole edilme oranlarına bakıldığında; grade 3 (%46.0) ve 4'te (%60.0) gram negatif bakteriler, grade 2'de ise %47.4 ile gram pozitif bakteriler daha baskın idi (Tablo 14).

Tablo 14. PEDİS Sınıflamasına Göre Kültürde Üreyen Etkenlerin Dağılımı

Kültür sonucu	Grade 2		Grade 3		Grade 4	
	Hasta sayısı(n)	%	Hasta sayısı(n)	%	Hasta sayısı(n)	%
Üreme yok	7	36.8	11	21.2	1	20.0
Gram pozitif bakteri	9	47.4	17	32.6	1	20.0
MSKNS	1	5.3	1	1.9	-	-
MRKNS	2	10.5	6	11.5	-	-
MSSA	3	15.8	2	3.8	1	20.0
MRSA	-	-	1	1.9	-	-
Enterekok	3	15.8	3	5.8	-	-
Streptekok	-	-	4	7.7	-	-
Gram negatif bakteri	3	15.9	24	46.0	3	60.0
P.aureginosa	-	-	1	1.9	1	20.0
E.coli	1	5.3	8	15.4	1	20.0
Enterobacter spp.	-	-	2	3.8	-	-
Acinetobacter baumanii	-	-	2	3.8	-	-
Klebsiella pneumoniae	1	5.3	7	13.5	-	-
Proteus	1	5.3	1	1.9	1	20.0
Citrobacter	-	-	2	3.8	-	-
Morganella morgani	-	-	1	1.9	-	-

MSKNS, Metisilin-sensitif koagülaz negatif stafilokoklar; MRKNS, Metisilin-rezistan koagülaz negatif stafilokoklar; MSSA, Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus;* MRSA, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

4.2. IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) Gen Polimorfizmi Sonuçları

Çalışmamızda IL-6 (-174 G>C) rs1800795 ve TNF-α (-238 G>A) rs361525 tek nükleotid polimorfizmlerinin genotip ve allel dağılımları Hardy-Weinberg eşitliği ile uyumlu bulunmuştur.

IL-6 (-174 G>C) rs1800795 tek nükleotid polimorfizmi genotip dağılımında DAE tanısı olan Tip 2 DM'li hastalarda doğal(GG) 49(%56.3)'unda, heterozigot(GC) 28(%32.2)'inde, mutant(CC) 10(%11.5)'unda olduğu görüldü. Diyabetik ayak tanısı olmayan Tip 2 DM'li hastaların 37(%61.7)'si GG, 18(%30.0)'i GC, beşi(%5.0) CC genotipine sahipti. Kontrol grubundaki bireylere bakıldığında

34(%56.7)'ünde GG, 19(%31.7)'unda GC, yedisinde(%11.7) CC genotipi olduğu saptandı (Şekil 17). Çalışma grupları arasında genotip dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p> 0.05) (Tablo 15). Tip 2 DM tanılı 147 hastanın (Grup 2+3) 86(%58.5)'sında GG, 46(%31.3)'sında GC, 15(%10.2)'inde CC genotipi olduğu görüldü. Benzer şekilde tip 2 DM tanılı hastalar ve kontrol grubu (GG %56.7, GC %31.7, CC %11.7) arasında anlamlı fark olmadığı görüldü (p > 0.05) (Tablo 16).

IL-6 (-174 G>C) rs1800795 G ve C allellerinin dağılımında ise DAE tanısı olan Tip 2 DM'li hastalar (G %72.4, C %27.6), DAE tanısı olmayan Tip 2 DM'li hastalar (G %76.6, C %23.4) ve kontrol grubu (G %72.5, C %27.5) arasında anlamlı fark yoktu (p > 0.05) (Tablo 15). Tip 2 DM tanılı 147 hastada (Grup 2+3) G alleli sıklığı %74.1, C alleli sıklığı %25.9 ve kontrol grubunda G alleli sıklığı %72.5, C alleli sıklığı %27.5 olduğu görüldü. G ve C alleli dağılımında her iki grup arasında fark yoktu (p > 0.05) (Tablo 16).

TNF-α (-238 G>A) rs361525 tek nükleotid polimorfizminde DAE tanısı olan Tip 2 DM'li hastaların 82(%94.3)'sinde GG genotipi, beşinde(%5.7) GA genotipi olduğu görüldü. Diyabetik ayak enfeksiyonu tanısı olmayan Tip 2 DM'li hastaların 54(%90.0)'ünde GG genotipi, altısında(%10) GA genotipi bulundu. Kontrol grubunda ise 57(%95.0)'sinde GG genotipi, üçünde(%5.0) GA genotipi olduğu saptandı (Şekil 18). AA genotipi her üç grupta da saptanmadı. Gruplar arasında genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p > 0.05) (Tablo 15). Tip 2 DM tanılı 147 hastanın (Grup 2+3) (GG %92.5, GA %7.5) ve kontrol grubunun (GG %95.0, GA %5.0) genotip dağılımları arasında anlamlı fark tespit edilmedi (p > 0.05) (Tablo 16).

TNF-α (-238 G>A) rs361525 G ve A allellerinin dağılımında ise DAE tanısı olan Tip 2 DM'li hastalar (G %97.1, A %2.9), DAE tanısı olmayan Tip 2 DM'li hastalar (G %95.0, A %5.0) ve kontrol grubu (G %97.5, A %2.5) arasında anlamlı fark yoktu (p > 0.05) (Tablo 15). Tip 2 DM tanılı 147 hastada (Grup 2+3) G alleli sıklığı %96.2, A alleli sıklığı %3.8 ve kontrol grubunda G alleli sıklığı %95.5, A

alleli sıklığı %4.5 olduğu görüldü. G ve A alleli dağılımında her iki grup arasında fark yoktu (p > 0.05) (Tablo 16).

Tablo 15. IL-6 (-174 G>C) rs1800795 ve TNF-α (-238 G>A) rs361525 Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Genotip ve Allel Dağılımları

Sitokin gen polimorfizmleri	**Grup 1 n (%)**	**Grup 2 n (%)**	**Grup 3 n (%)**	***P***
IL-6 (-174 G>C) rs1800795				
Genotip				
GG	34 (56.7)	37 (61.7)	49 (56.3)	>0.05
GC	19 (31.7)	18 (30.0)	28 (32.2)	>0.05
CC	7 (11.7)	5 (8.3)	10 (11.5)	>0.05
Allel				
G	87 (72.5)	92 (76.6)	126 (72.4)	>0.05
C	33 (27.5)	28 (23.4)	48 (27.6)	>0.05
TNF-α (-238 G>A) rs361525				
Genotip				
GG	57 (95.0)	54 (90.0)	82 (94.3)	>0.05
GA	3 (5.0)	6 (10.0)	5 (5.7)	>0.05
AA	-	-	-	-
Allel				
G	117 (97.5)	114 (95.0)	169 (97.1)	>0.05
A	3 (2.5)	6 (5.0)	5 (2.9)	>0.05

n,hasta sayısı

Tablo 16. Tip 2 DM Tanısı Olan Hastalarda ve Kontrol Grubunda IL-6 (-174 G>C) rs1800795 ve TNF-α (-238 G>A) rs361525 Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Genotip ve Allel Dağılımları

Sitokin gen polimorfizmleri	**Tip 2 DM tanısı olan hastalar (Grup 2+3) n (%)**	**Kontrol Grubu (Grup 1) n (%)**	***P***
IL-6 (-174 G>C) rs1800795			
Genotip			
GG	86 (58.5)	34 (56.7)	>0.05
GC	46 (31.3)	19 (31.7)	>0.05
CC	15 (10.2)	7 (11.7)	>0.05
Allel			
G	218 (74.1)	87 (72.5)	>0.05
C	76 (25.9)	33 (27.5)	>0.05
TNF-α (-238 G>A) rs361525			
Genotip			
GG	136 (92.5)	57 (95.0)	>0.05
GA	11 (7.5)	3 (5.0)	>0.05
AA	-	-	-
Allel			
G	283 (96.2)	65 (95.5)	>0.05
A	11 (3.8)	3 (4.5)	>0.05

Şekil 17. Çalışma Gruplarında IL-6 (-174 G>C) Polimorfizmi Genotip Dağılımları

Şekil 18. Çalışma Gruplarında TNF-α (-238 G>A) Polimorfizmi Genotip Dağılımları

4.3. IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) Genotip Dağılımların PEDİS Sınıflaması ile İlişkisi

Diyabetik ayak enfeksiyonu tanılı hastaların PEDİS sınıflamasında grade 3 en baskın olanıydı, onu grade 2 ve grade 4 izledi (Tablo 12). IL-6 (-174 G>C) gen polimorfizminde doğal genotipe (GG) karşı mutant genotipler (GC+CC) ve PEDİS sınıflaması gradeleri ile arasındaki ilişki incelendi. Grade 2'de %53.6 GG , %46.4 GC+CC genotip gözlenirken, grade 3'te %53.7 GG, %46.3 GC+CC saptandı. Grade 4 hastalarının %100'ü GG genotipe sahipti. Benzer şekilde TNF-α (-238 G>A) gen polimorfizminde doğal genotipe (GG) karşı mutant genotipler (GA+AA) ve PEDİS sınıflaması gradeleri ile arasındaki ilişki incelendi. Grade 2' de %89.3 GG , %10.7 GA+AA genotip gözlenirken, grade 3' te %96.3 GG, %3.7 GA+AA saptandı. Grade 4 hastalarının ise %100'ü GG genotipe sahipti. IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) genotip dağılımlarının ülser dereceleri ile genetik ilişkisi Tablo 17' de gösterilmiştir.

Tablo 17. IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) Genotip Dağılımlarının DAE Ülser Dereceleri ile İlişkisi

Sitokin gen polimorfizmleri	**Grade 2 n (%)**	**Grade 3 n (%)**	**Grade 4 n (%)**
IL-6 (-174 G>C) GC+CC' ye Karşı GG			
GG	15 (53.6)	29 (53.7)	5 (100.0)
GC+CC	13 (46.4)	25 (46.3)	-
TNF-α (-238 G>A) GA+AA Vs. GG			
GG	25 (89.3)	52 (96.3)	5 (100.0)
GA+AA	3 (10.7)	2 (3.7)	-

4.4. IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) Genotip Dağılımlarının Patojen Mikroorganizmalarla İlişkisi

Diyabetik ayak enfeksiyonu olan hastalarda *E.coli* ve KNS en sık izole edilen etkenlerdi ve onları *Klebsiella pneumoniae* ile *Staphylococcus aureus* izledi. IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) genotip dağılımlarının patojen mikroorganizmalarla ilişkisi her TNP için ayrı ayrı hesaplandı. IL-6 (-174 G>C), doğal genotip (GG) ile mutant genotipler (GC+CC) karşılaştırıldığında artan duyarlılık gösteren mikroorganizma saptanmadı. TNF-α (-238 G>A) doğal genotipe (GG) karşı mutant genotipler (GA+AA) karşılaştırıldığında artan duyarlılık gösteren mikroorganizma saptanmadı.

4.5. IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) Genotip Dağılımlarının DAE' de Yapılan Cerrahi Tedavi Prosedürleri ile İlişkisi

Diyabetik ayak enfeksiyonu olan hastalarda hem tıbbı tedavi hem de cerrahi tedaviler uygulanmıştır. 87 hastanın %75.9'una debridman, %27.6'sına amputasyon uygulandı. IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) genotip dağılımlarının uygulanan cerrahi tedavi prosedürleri ile ilişkisi her TNP için ayrı ayrı hesaplandı. IL-6 (-174 G>C) doğal genotipe (GG) karşı mutant genotipler (GC+CC) ve tedavi prosedürleri ile arasındaki ilişki incelendi. Debridman yapılan hastalarda %59.1 GG, %40.9 GC+CC genotipi saptandı. Amputasyon yapılan hastaların %66.7'si GG, %33.3'ü GC+CC genotipe sahip idi. Cerrahi tedavi prosedürleri ile IL-6 (-174 G>C) genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$). Benzer şekilde TNF-α (-238 G>A) doğal genotipe (GG) karşı mutant genotipler (GA+AA) ve tedavi prosedürleri ile arasındaki ilişki incelendi. Debridman yapılan hastalarda ise %97.0 GG, %3.0 GA+AA genotipi saptandı. Amputasyon yapılan hastaların %100.0'ü GG genotipe sahip idi. IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) genotip dağılımlarının DAE' de uygulanan cerrahi tedavi prosedürleri ile ilişkisi Tablo 18' de gösterilmiştir.

Tablo 18. IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) Genotip Dağılımlarının DAE' de Uygulanan Cerrahi Tedavi Prosedürleri ile İlişkisi

Sitokin gen polimorfizmleri	Debridman n (%)	Amputasyon n (%)
IL-6 (-174 G>C) GC+CC' ye Karşı GG		
GG	39 (59.1)	16 (66.7)
GC+CC	27 (40.9)	8 (33.3)
TNF-α (-238 G>A) GA+AA Vs. GG		
GG	64 (97.0)	24 (100.0)
GA+AA	2 (3.0)	-

4.6. IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) Genotip Dağılımlarına Göre Klinik ve Laboratuvar Düzeylerine Ait Bulgular

Diyabetik ayak enfeksiyonu tanısı olan Tip 2 DM'li hastalar IL-6 ve TNF-α'nın doğal ve mutant genotip dağılımlarına göre demografik, antropometrik veriler, klinik ve laboratuvar bulgular arasındaki ilişki incelendi.

DAE tanılı hastalarda IL-6 (-174 G>C) rs1800795 GG genotipinde (%53.1), mutant genotiplere (GC+CC) kıyasla (%28.9) önemli ölçüde daha yüksek osteomiyelit sıklığı gözlendi. Genotipler arasında osteomiyelit varlığı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (p=0.024). DAE tanılı hastalarda diğer demografik, antropometrik veriler, klinik ve laboratuvar bulgular ile ilişki saptanmadı. DAE tanılı hastalarda IL-6 (-174 G>C) genotip dağılımlarının klinik ve laboratuvar bulgularıyla ilişkisi Tablo 19' da verilmiştir.

DAE tanılı hastalarda TNF-α (-238 G>A) rs361525 GA genotipinde GG genotipi olanlara göre (sırasıyla %80.0, %24.4) periferik venöz yetmezlik sıklığı istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha yüksek bulundu (p=0.007). DAE tanılı hastalarda vücut kütle indeksi ortalaması GA genotipinde 31.7±4.3 kg/m^2 ve GG genotipinde 27.3±3.4 kg/m^2 olarak tespit edildi. Genotipler arasında VKİ ortalamaları dağılımları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (p=0.012). DAE tanılı hastalarda diğer demografik, antropometrik veriler, klinik ve laboratuar bulgular ile ilişki saptanmadı. DAE tanılı hastalarda TNF-α (-238 G>A)

genotip dağılımlarının klinik ve laboratuvar bulgularıyla ilişkisi Tablo 20' de gösterilmiştir.

Tablo 19. DAE Tanılı Hastalarda IL-6 (-174 G>C) Genotip Dağılımlarının Klinik ve Laboratuvar Bulgularıyla İlişkisi

IL-6 (-174 G>C)			
	GG (ortalama±SD)/ medyan (Q_1-Q_3)	**GC + CC (ortalama±SD)/ medyan (Q_1-Q_3)**	***P***
Cinsiyet (kadın / erkek) (sayı)	10/39	11/27	>0.05
Yaş (yıl)	59.7±8.8	60.4±11.6	>0.05
VKİ (kg/m^2)	27.5±3.4	27.7±3.8	>0.05
Sigara kullanımı (n)(%)	18 (36.7)	12 (31.6)	>0.05
Diyabet süresi (yıl)	13.6±6.3	13.8±6.9	>0.05
HT varlığı (n)(%)	22 (44.9)	17 (44.7)	>0.05
KAH varlığı (n)(%)	20 (40.8)	15 (39.5)	>0.05
KRY varlığı (n)(%)	7 (14.3)	8 (21.1)	>0.05
PAH varlığı (n)(%)	19 (38.8)	14 (36.8)	>0.05
PVY varlığı (n)(%)	12 (24.5)	12 (31.6)	>0.05
Periferik nöropati (n)(%)	27 (55.1)	17 (44.7)	>0.05
DAE'nin bulunduğu extremite (n)(%)			
Sağ	23 (46.9)	18 (47.4)	>0.05
Sol	19 (38.8)	15 (39.5)	
Her iki extremite	7 (14.3)	5 (13.2)	
Osteomiyelit varlığı (n)(%)	26 (53.1)	11 (28.9)	**0.024**
WBC (/mm^3)	10730.8±4444.4	11063.9±5386.7	>0.05
Hemoglobin (g/dL)	12.2±2.1	12.0±2.3	>0.05
Trombosit (/mm^3)	324591.8±97957.0	316657.9±90090.1	>0.05
AST (U/L)	24.8±16.3	21.6±13.0	>0.05
ALT (U/L)	21.5±12.9	17.7±9.3	>0.05
ESH (mm/saat) (<15)	61.9±32.9	59.8±29.6	>0.05
Albümin (g/dL)	3.0±0.5	3.0±0.6	>0.05
HbA1c (%) (4.8–5.9)	9.5±2.2	9.8±2.6	>0.05
Toplam kolesterol (mg/dL) (<200)	162.2±51.1	170.4±39.6	>0.05

LDL-kolesterol (mg/dL) (<130)	104.8±34.2	110.5±27.4	>0.05
BUN (mg/dL)	24.0 (17.0-38.0)	30.5 (20.0-43.0)	>0.05
Kreatinin (mg/dL) (0,5-0,9)	1.0 (0.8-1.5)	1.1 (0.9-1.5)	>0.05
CRP (mg/L) (0-5)	67.0 (22.0-129.0)	42.5 (10.0-125.0)	>0.05

VKİ, vücut kütle indeksi; KRY, kronik renal yetmezlik; KAH, kronik arter hastalığı; HT, hipertansiyon; PAH, periferik arter hastalığı; PVY, periferik venöz yetmezlik; WBC, total beyaz küre sayısı, ESH, eritrosit sedimentasyon hızı; HbA1c, hemoglobinA1c; LDL, low density lipoprotein; BUN, blood urea nitrogen; CRP, C-reaktif protein

Tablo 20. DAE Tanılı Hastalarda TNF-α (-238 G>A) Genotip Dağılımlarının Klinik ve Laboratuvar Bulgularıyla İlişkisi

TNF-α (-238 G>A)			
	GG (ortalama±SD)/ medyan (Q_1-Q_3)	**GA (ortalama±SD)/ medyan (Q_1-Q_3)**	***P***
Cinsiyet (kadın / erkek) (sayı)	21/61	-/5	-
Yaş (yıl)	60.5±9.5	53.0±16.9	>0.05
VKİ (kg/m^2)	27.3±3.4	31.7±4.3	**0.012**
Sigara kullanımı (n) (%)	28 (34.1)	2 (40.0)	-
Diyabet süresi (yıl)	13.8±6.5	11.8±8.3	>0.05
HT varlığı (n)(%)	36 (43.9)	3 (60.0)	-
KAH varlığı (n)(%)	32 (39.0)	3 (60.0)	-
KRY varlığı (n)(%)	15 (18.3)	-	-
PAH varlığı (n)(%)	31 (37.8)	2 (40.0)	-
PVY varlığı (n)(%)	20 (24.4)	4 (80.0)	**0.007**
Periferik nöropati (n) (%)	40 (48.8)	4 (80.0)	-
DAE'nin bulunduğu extremite (n)(%)			
Sağ	40 (48.8)	1 (20.0)	-
Sol	31 (37.8)	3 (60.0)	
Her iki extremite	11 (13.4)	1 (20.0)	
Osteomiyelit varlığı (n)(%)	35 (42.7)	2 (40.0)	-
WBC (/mm^3)	10755.5±4909.0	12858.0±3584.6	>0.05
Hemoglobin (g/dL)	12.1±2.2	11.9±2.3	>0.05
Trombosit (/mm^3)	318756.1±94715.0	360000.0±83027.1	>0.05
AST (U/L)	23.8±15.3	17.2±5.1	>0.05
ALT (U/L)	19.7±11.5	21.8±14.7	>0.05
ESH (mm/saat) (<15)	60.5±31.3	68.6±33.8	>0.05

Albümin (g/dL)	3.0±0.5	3.4±0.9	>0.05
HbA1c (%) (4.8–5.9)	9.6±2.1	10.2±5.0	>0.05
Toplam kolesterol (mg/dL) (<200)	165.5±47.6	171.2±20.2	>0.05
LDL-kolesterol (mg/dL) (<130)	107.2±31.9	109.0±22.5	>0.05
BUN (mg/dL)	26.0((18.0-42.0)	17.0(13.0-25.0)	>0.05
Kreatinin (mg/dL) (0,5-0,9)	1.1(0.8-1.5)	1.0(0.8-1.0)	>0.05
CRP (mg/L) (0-5)	50.0(14.0-125.0)	48.0(39.0-134.0)	>0.05

VKİ, vücut kütle indeksi; KRY, kronik renal yetmezlik; KAH, kronik arter hastalığı; HT, hipertansiyon; PAH, periferik arter hastalığı; PVY, periferik venöz yetmezlik; WBC, total beyaz küre sayısı, ESH, eritrosit sedimentasyon hızı; HbA1c, hemoglobinA1c; LDL, low density lipoprotein; BUN, blood urea nitrogen; CRP, C-reaktif protein

5. TARTIŞMA

Diyabetik ayak enfeksiyonu diyabetin morbidite ve mortalite ile sonuçlanan en önemli komplikasyonudur. Diyabetik ayak ülseri gelişen hastalarda ölüm oranları ülser geliştikten sonraki ilk bir yılda %5 ve 5 yılda % 42 olarak tahmin edilmektedir. Diyabetik ayak enfeksiyonu olan hastalar ayak yarası olmayan diyabetik hastalar ile karşılaştırıldığında 2.5 kat daha fazla ölüm riski ile karşı karşıya bulunmaktadır (25, 153).

Bu çalışmada IL-6 (-174 G>C / rs1800795) ve TNF-α (-238 G>A / rs361525) tek nükleotid polimorfizmlerinin diyabetik ayak enfeksiyonu ile arasındaki ilişki araştırılmıştır. Yaptığımız araştırmalarda mevcut çalışmaların diyabetik ayak ülserlerinde pek çok farklı genin rolü araştırılmış olup; diyabetik ayak enfeksiyonu gelişmesinde gen polimorfizmlerinin rolünün incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu bakımdan çalışmamız literatürde ilk olup özgün değer taşımaktadır.

Demografik özellikler açısından irdelendiğinde literatürdeki birçok çalışmada DAE erkeklerde ve 60 yaş üzerinde daha sık karşımıza çıkmaktadır (62, 153). Saltoğlu ve arkadaşlarının yaptığı 455 DAE olan hastanın incelendiği çalışmada ortanca yaş 61, erkek oranı %68 idi (154). Al-Rubeaan ve arkadaşlarının DAE olan 2000 kişiyi incelediği bir çalışmada erkek oranı %68.5, ortalama hasta yaşı 63.8 ve

ortalama diyabet yaşı 20.8 idi (155). DA epidemiyolojisi ile ilgili dört farklı veritabanındaki verilerin incelendiği bir çalışmada erkeklerde DAÜ kadınlardan daha sık saptanmış olup bu durum erkeklerin fiziksel aktivitelerinin daha fazla olması nedeniyle yaralanmaya karşı daha açık olmalarına bağlanmıştır (34). Çalışmamızda DAE gelişen hastaların %75.9'u erkekti. Hastaların ortalama yaşı 60.0±10.1 yıl, ortanca yaşı 60.0, diyabet yaşı ise 13.7±6.5 idi. Çalışmamızda hastaların çoğunluğunun erkek olması, yaş ortalamasının 60 yaş olması ve diyabet yaşının 10 yıldan fazla olması literatürdeki diğer çalışmalar ile benzer olarak bulunmuştur.

Diyabet süresi uzun olgularda diyabetik ayak komplikasyonu gelişme olasılığı artmaktadır. Diyabet özelliklerinin ayak enfeksiyonu gelişimine etkisi ele alınması gereken ana başlıklardan biridir. Diyabetik enfekte ülser gelişen olguların diyabet süreleri ortalama 13,9±9,9 yıldır (156). Diyabet süresinin uzamasıyla diyabetik ayak oluşumunun arttığı bilinmektedir (157). Çalışmamızda ise 13.7±6.5 yıl bulunmuştur.

Beaney ve arkadaşlarının yaptığı diyabetik ayak ampütasyonlarındaki risk faktörlerinin araştırıldığı çalışmada; ampüte edilmiş toplam 33 hasta olup, hastaların ortalama HbA1c değeri % 8.25, PAH sıklığı % 29.2, HT sıklığı % 24.4 olup; hastaların % 69.7' si Tip 2 DM' ye sahipti (158). Saltoğlu ve arkadaşlarının çalışmasında hastaların tümü Tip 2 DM iken, bunların % 89' unda insülin kullanımı mevcuttur. Ortalama DM süresi 19 yıl, ortalama VKİ 28, ampütasyon öyküsü % 34, sigara kullanım öyküsü % 32, KRY sıklığı % 34, KAH sıklığı % 21 olup, % 65 hastada PAH semptom ve bulguları saptanmıştır (154). Wiessman ve arkadaşlarının çalışmasında ise KAH sıklığı % 46.5, HT sıklığı % 62.5 olup, sigara kullanım sıklığı ise % 9.6 idi (159). Bizim çalışmamızda DAE tanılı hastaların 73'ü (%83.9) aktif olarak insülin tedavisi almaktayken, 14'ü (%16.1) OAD tedavisi altındaydı. 27 hastaya (%31.0) daha önceden ampütasyon uygulanmıştı. Hastaların % 34.5'inde sigara kullanım öyküsü mevcuttu. Ortalama VKİ'i 27.6±3.6, HbA1c ise % 9.6±2.3 idi. Hastaların KRY sıklığı %17.2, KAH sıklığı %40.2, HT sıklığı %44.8 olup, %37.9 hastada PAH semptom ve bulguları saptanmıştır. Çalışmamızdaki hastaların komorbiditeleri, VKİ ve HbA1c ortalamaları, insülin kullanım oranları ve DM sürelerinin literatür ile benzerlik gösterdiği izlenmektedir.

İnflamasyon göstergeleri olan lökosit sayısı, CRP, sedimentasyon ve prokalsitonin gibi biyobelirteçler, DAE ile kolonizasyonun ayırt edilmesinde yararlı olabilir. İnfeksiyon durumunda bu biyobelirteçlerin bir ya da birkaçı yüksek düzeylere çıkabilmektedir. Bu belirteçler tek başına DAE tanısı koydurmaz; ancak hem tanıya katkı sağlar, hem de infeksiyonun ciddiyeti hakkında klinisyene bilgi verebilir (37). Ancak bu konuda yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Armstrong ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada diyabetik ayak enfeksiyonu nedeniyle başvuran 189 hastanın %56'sında lökosit değerlerinin normal seviyelerde olduğunu bildirmişlerdir (160). Uzun ve arkadaşları ise diyabetik ayak enfeksiyonu olan hastalarda lökosit değerlerinin belirgin olarak yüksek olduğunu bildirmişlerdir (161). Bizim çalışmamızda ortalama lökosit sayısı sonuçlarını irdelediğimizde, DAE tanılı hastalarda ortalama lökosit sayısı 10876.3±4851.5/mm³ olarak saptanmış olup kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır.

Diğer bir enfeksiyon belirteci olan CRP ile yapılan çalışmalar incelendiğinde Jirkovska ve arkadaşları, 34 diyabetik ayak enfeksiyonlu hasta ile 27 sağlıklı gönüllüyü karşılaştırdıkları çalışmada, CRP düzeyini DAE olan hastalarda yüksek saptamışlardır (162). Benzer bir sonuç da, Uzun ve arkadaşlarının diyabetik ayak enfeksiyonu üzerine yaptıkları çalışmada bulunmuştur (161). Bu çalışmada da DAE tanılı hastalarda CRP değeri 50.0(14.0- 129.0) mg/L olarak hesaplanmıştır. DAE grubunda grup 2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanarak literatürdeki diğer çalışmalar ile benzer bulunmuştur.

Önemli enfeksiyon belirteçlerinden biri olan sedimentasyon ile yapılan çalışmalar irdelendiğinde Uzun ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, diyabetik ayak enfeksiyonu olan hastalarda, ESH düzeyleri, diyabetik ayak enfeksiyonu olmayanlara ve sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek saptanmış ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (161). Ertuğrul ve arkadaşları ESR düzeylerini osteomiyeliti olan diyabetik hastalarda osteomiyeliti olmayanlara göre daha yüksek bulmuşlardır (163). Bizim çalışmamızda da literatürdeki çalışmalara benzer şekilde, ortalama ESH düzeyleri DAE olan hastalarda (61.0±31.3), kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır.

Diyabette çoğu komplikasyon genetik ve çevresel faktörlerin bir kombinasyonunun sonucudur. Kişiden kişiye değişen bu genetik özelliklerin en önemlilerinden birisi olan bu TNP'ler bireylerde doğal, heterozigot veya mutant genotip oluşturmaktadır. Bu durumda aynı çevresel etkenlerin farklı biyolojik yanıtlar oluşturması ile sonuçlanmaktadır. Sitokin polimorfizminin bireyler arasında farklı miktarda sitokin ekspresyonu gerçekleştiği gösterilmiştir. Hastalıkların bireyler arasında farklı seyretmesinin önemli nedenlerinden biri bu genetik varyasyonlardır.

Diyabetik ayak ülserlerin etyolojisinde de hem genetik hem de çevresel faktörler önemli bir rol oynar. Bununla birlikte hastalık patofizyolojisi hala tam olarak anlaşılamamıştır. Diyabetik ayak enfeksiyonu hiperglisemi, nöropati ve/veya iskemi zemininde oluşan travmalara sekonder gelişen tedavisi zor bir hastalıktır (2). Tip 2 DM' de görülen bozulmuş bağışıklık, proliferasyonun azalmasına ve yaranın yeniden şekillenmesinin bozulmasına neden olur. Diyabetik ayak enfeksiyonunda kronik düşük seviyede inflamasyon durumu ve uzamış inflamatuvar yanıt ile proinflamatuvar sitokinlerde (IL-1, IL-6 ve TNF-α) artış gözlenmiştir. Diyabetik ayak enfeksiyonunda kronik inflamasyon durumu ve uzamış inflamatuvar yanıt ile yara iyileşmesinde gecikme ve uzun süreli enfeksiyonlara yol açmaktadır. IL-6 ve TNF-α'da inflamasyonda ve yara iyileşmesi sürecinde görev alan önemli sitokinlerdir (47).

Diyabetik ayak ülseri ile büyüme faktörlerinin TNP'leri arasında genetik bir ilişki gösterilmiştir. Konakçı genetik faktörler, enfeksiyonlar ve lokal sitokin düzeyleri DAÜ ve DAE' nin şiddetini ve tedavi sonucunu etkilemektedir. Sitokin ve kemokin genlerindeki TNP'ler, yara iyileşmesinin üç aşamasını koordine ettiği için diyabetik ayak ülseri gelişiminde çok önemlidir (2). DAÜ'nün patogenezi ve ilerlemesiyle ile ilgili çeşitli genlerin TNP'lerinin rolünü belirlemek için bir dizi genetik çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada Türk popülasyonunun IL-6 (-174 G>C / rs1800795) ve TNF-α (-238 G>A / rs361525) tek nükleotid polimorfizmlerinin diyabetik ayak enfeksiyonu gelişimini nasıl etkilediğini belirlemek istedik. Etnik özelliklere göre bireylerde gözlenen polimorfizmlerin değişiklik gösterebilmesi nedeniyle çalışmamızın önemi daha da artmaktadır. Başka etnik popülasyonlarda DAÜ ile ilgili yapılmış benzer çalışmalar bulunsa da IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α' nın

(-238 G>A) gen lokuslarında görülen polimorfizlerin diyabetik ayak enfeksiyonu ile ilişkisini inceleyen Türk popülasyonu üzerinde yapılan bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

İnterlökin-6, akut faz reaksiyonları, immünglobülin salgılanması, T ve B hücre fonksiyonu, vücut enerji dengesini düzenleyen, hematopoez gibi biyolojik etkileri olan pleiotropik bir sitokindir. IL-1 ve TNF-α gibi sitokin kaskadında yer alır ve enfeksiyona karşı immünoinflamatuar yanıtı düzenler (98). IL-6 diyabetik ayak gelişiminde potansiyel bir patolojik rol oynayan önemli bir proinflamatuar sitokindir. İnterlökin-6 geni -174G/C pozisyonundaki tek nükleotid polimorfizmi ile metabolik sendrom, obezite, insülin direnci, Tip 2 DM, DAÜ üzerine yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar bildirilmiştir (54, 164-167).

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre IL-6 (-174 G>C) genotip dağılımı DAE tanısı olan Tip 2 DM'li hastalar (GG% 56.3, GC% 32.2, CC% 11.5), diyabetik ayak tanısı olmayan Tip 2 DM'li hastalar (GG% 61.7, GC% 30.0,CC% 5.0) ve kontrol grubu (GG% 56.7, GC% 31.7,CC% 11.7) arasında anlamlı farklılık göstermedi (p>0.05) (Tablo 15). Benzer şekilde IL-6 genotip dağılımı tüm DM tanılı hasta grubu (Grup 2+3) (GG% 58.5, GC% 31.3, CC% 10.2) ile kontrol grubu (GG %56.7, GC %31.7, CC %11.7) arasında anlamlı fark olmadığı görüldü (p > 0.05) (Tablo 16).

Yaptığımız bu çalışmada Türk popülasyonunda IL-6 (-174 G>C) tek nükleotid polimorfizmi ile diyabetik ayak enfeksiyonu arasında ilişkisi saptanmamıştır. Bu bölgenin diyabetik ayak enfeksiyonu ile ilişkisini gösteren çalışmalara rastlanmaması nedeniyle diyabetik ayak ülseri ile ilişkisini araştıran çalışmalar incelenmiştir. Bizim sonuçlarımızla uyumlu olacak şekilde Erdoğan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada IL-6 (-174 G>C) polimorfizminin diyabet için bir risk faktörü olduğunu ancak diyabetik ayak ülseri gelişimi için bağımsız bir risk faktörü olmadığını göstermiştir (87). Benzer bir sonuçta Dhamodharan ve arkadaşları tarafından IL-6 -174 C alelinin diyabete karşı bir miktar koruma sağladığı gözlenirken DAÜ'e karşı koruma sağladığı gözlenmemiştir (54). Öte yandan Viswanathan ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptıkları çalışmada IL-6, TNF-α, SDF-

1 TNP'lerinin DAÜ'de şiddetli enfeksiyon için önemli bir risk faktörü olduğu bulunmuştur. IL-6 (-174 G>C) mutant genotiplerin serum sitokin seviyelerini önemli düzeyde azalttığı gösterilmiştir (2). Stappers ve arkadaşları komplike deri enfeksiyonu ile IL-6 (-174 G>C) sitokin gen polimorfizmi arasında güçlü bir genetik ilişki bildirmişlerdir (168).

IL-6 (-174 G>C) gen polimorfizminin Tip 2 diyabet ile ilişkisinin değerlendirildiği çalışmada Yerli Amerikalılar ve Kafkasyalılarda Tip 2 DM ile ilişkili olduğu bulunmuştur (169). Saxena ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Hindistan popülasyonunda IL-6, TNF-α ve IL-10 gen polimorfizmlerinin Tip 2 DM hastalığına yatkınlıkta önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (170). Wei ve arkadaşları ise gestasyonel DM' ye karşı duyarlılığın artmasıyla ilişkili olduğunu göstermişlerdir (88). Bizim çalışmamızda ise bu çalışmaların aksine Türk popülasyonunda IL-6 (-174 G>C) polimorfizminin Tip 2 diyabet oluşumu arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır. Çalışmamızı destekler nitelikteki Chang ve arkadaşlarının 2004'te yaptıkları araştırmaya göre de IL-6 geninin (-174 G>C) promoter polimorfizmi Tayvanlı Tip 2 DM patogenezinde rol oynamadığı gösterilmiştir. Çalışmalarında katılımcıların hiç biri "C" alleli taşımamıştır (171). "C" alleli küçük bir alleldir. Bazı etnik popülasyonlarda bulunmayabilir.

Literatürde IL-6 (-174 G>C) gen polimorfizminin diyabet komplikasyonları üzerine etkileri araştırıldığında Karadeniz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada IL-6 (-174 G>C) gen polimorfizminin diyabetik nefropati için bağımsız bir risk faktörü olduğu gözlemlenmiştir (172). Papaoikonomou ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada Tip 2 DM hastalarda IL-6 (-174 G>C) TNP'sinin diyabetik nefropati ile ilişkisi incelenmiştir. Çalışmada CC homozigotlarının GC genotiplerine kıyasla düşük albümin atılımına sahip olduğu ve nefropatiden koruduğu bulunmuştur (173). Ayrıca Cui ve arkadaşlarının 2020 yılında yaptıkları çalışmada IL-6 polimorfizminin, diyabetin mikrovasküler komplikasyonları arasında ilişki olmadığı saptanmıştır (93). Yine aynı şekilde Rudofsky ve arkadaşları IL-6 polimorfizminin diyabetli hastalarda mikrovasküler komplikasyon gelişiminde etkisinin olmadığını bulmuşlardır (174).

Tümör nekroz faktörü alfa, başlıca inflamasyon düzenleyicilerinden biridir ve sitokin ağında anahtar rol oynayan bir hücre sinyal proteinidir. TNF-α'nın ana işlevi, T hücrelerinin, B hücrelerinin ve makrofajların aktivasyonu yolu ile bağışıklık sistemini düzenlemek, böylece diğer sitokinlerin üretimini uyarmaktır (139). TNF-α geninin pek çok noktasında TNP saptanmış olmakla beraber en çok araştırılanlar ise -308 (G/A) ve -238 (G/A) pozisyonunda olanlardır. -308A ile -238A alellerinin yüksek TNF-α miktarlarının salınmasında rolleri olduğu bilinmektedir. Bu yüzden de bu iki pozisyondaki polimorfizmlerin yüksek miktarda TNF-α üretimi ile ilgili olarak genetik marker olabilecekleri üzerinde durulmaktadır (175). TNF-α' nın (-238 G>A) gen pozisyonundaki TNP'si ile insülin direnci, metabolik sendrom, Tip 2 DM ve DAÜ ile ilişkisi üzerine yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir (176-180).

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre TNF-α (-238 G>A) genotip dağılımı DAE tanısı olan Tip 2 DM'li hastalar (GG% 94.3, GA% 5.7), diyabetik ayak tanısı olmayan Tip 2 DM'li hastalar (GG% 90.0, GA% 10.0) ve kontrol grubu (GG% 95.0, GA% 5.0) arasında anlamlı farklılık göstermedi ($p>0.05$) (Tablo 15). Benzer şekilde TNF-α genotip dağılımı tüm DM tanılı hasta grubu (Grup 2+3) (GG% 92.5, GA% 7.5) ile kontrol grubu (GG% 95.0, GA% 5.0) arasında anlamlı fark olmadığı görüldü ($p > 0.05$).

Literatür incelemesi yapıldığında DM ve/veya DAÜ olan hastalarda TNF-α (-308 G>A) TNP'ye kıyasla (-238 G>A) ile ilgili nispeten daha az çalışma yapılmıştır. Yaptığımız bu çalışmada Türk popülasyonunda TNF-α (-238 G>A) TNP ile DAE arasında ilişkisi saptanmamıştır. Sonuçlarımız Kafkas popülasyonundaki komplike deri enfeksiyonları ile TNF- α (-238 G>A)'nın genetik ilişkisini gösteremeyen Stappers ve arkadaşlarının raporuna oldukça uygundur. Aynı çalışmada TNF- α (-238 G>A) gen pozisyonunun aksine TNF-α' nın (-308 G>A) gen pozisyonundaki TNP'si ve IL-6 (-174 G>C) TNP'lerinin deri enfeksiyonları ile güçlü bir genetik ilişkisi olduğu bildirilmiştir (168). Benzer bir sonuçta Dhamodharan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada diyabetik ayak ülseri ile TNF-α (-238 G>A) TNP arasında genetik ilişki bulunamamıştır. TNF-α (-308 G>A) "A"aleli hem Tip 2 DM hem de DAÜ'ne genetik duyarlılık kazandırdığı gözlenlenmiştir. Ayrıca, diyabetik

hastada TNF-α (-308 G>A) ve IL-6 (-174 G>C) TNP'lerinin ilgili serum sitokin seviyelerini kontrol ettikleri bulunmuştur. Tüm promoter TNP'lerin serum sitokin seviyelerini etkilemediği görülmüştür. Tek nükleotid polimorfizmlerinin bir kısmı sinyale özgü gen ekspresyonunda ve/veya yara mikro ortamında önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle sitokin/kemokin genlerindeki TNP'lerin DAÜ için değerli bir biyobelirteç olabileceğini düşündürmüştür (54). Bununla birlikte Viswanathan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada IL-6, TNF-α, SDF-1 TNP'lerinin diyabetik ayak ülserinde mikrobiyal enfeksiyon riskinde artış olduğu bulunmuştur. Ancak ciddi mikrobiyal enfeksiyonlarla ilişkilendirilen TNF-α (-308 G>A) TNP'si olup TNF-α (-238 G>A) ile ilişki saptanmamıştır (2). Başka bir çalışmada Polonya popülasyonunda TNF-α (-308 G>A) gen polimorfizminin, kronik alt ekstremite enfeksiyonlarının gelişmesine yatkınlık oluşturduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada mutant genotiplerde yaralarda artmış TNF-α ekspresyonuna sahip olduğu, bununda inflamatuar fazı uzatıp yara iyileşmesini geciktirdiği bildirilmiştir (89). Bu sonuçlar, çeşitli popülasyon temelli genetik çalışmalar arasında iyi belgelenmiş olan etnik farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir.

Feng ve arkadaşları 2011 yılında Avrupa ve Asya popülasyonunda TNF-α (-238 G>A) polimorfizmi ile Tip 2 diyabet arasında ilişki olmadığını bildirdikleri bir meta analiz yayınladılar (180). Tayvanlı hastalar üzerinde yapılan bir diğer çalışmada TNF-α (-238 G>A) polimorfizminin diyabet gelişimine etki etmediği bulunmuştur (176). Benzer şekilde Jamil ve arkadaşlarının çalışmasında Arap popülasyonunda ilgili gen bölgesi ve diyabet gelişimi arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki bulunamamıştır (177). Başka bir çalışmada Çin popülasyonunda TNF-α (-238 G>A) polimorfizminin hastalık gelişimine etkisi olmadığı gösterilmiştir (178). Bizim çalışmamızda da Türk popülasyonunda TNF-α (-238 G>A) polimorfizminin Tip 2 diyabet oluşumu arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Buna karşın literatürdeki iki çalışmada TNF-α (-238 G>A) sitokin gen polimorfizmin insülin direnci ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. TNF-α (-238 G>A) A allelinde artmış serum TNF-α ve vücut kütle indeksi arasında önemli bir ilişki bildirilmiştir (179, 181).

Literatürde diyabetik ayak ülser dereceleri ile TNP arasındaki ilişkinin incelendiği sadece bir çalışma mevcuttur. Bu bakımdan diyabetik ayak enfeksiyonu

olan hastalarda bu ilişkinin incelenmesi yönüyle de çalışmamız özgün değer taşımaktadır. 2018 yılında Hindistan popülasyonunda yapılan bu tek çalışmada diyabetik ayak ülser derecesi ile genetik ilişki araştırılmış. Çalışmada IL-6 (−174 G>C), TNF-α (−308 G>A), TNF-α (-238 G>A) ve SDF-1 (+801G>A) bu dört TNP'nin Wagner grade 1, 2, 3 ile bir miktar ilişki gösterilmiş ancak TNP'lerin hiçbiri grade 4 ile ilişki göstermemiştir. İnceledikleri dört TNP'den sadece TNF-α (−308 G>A) ve TNF-α (-238 G>A) karıştırıcı değişkenler için ayarlama yapıldıktan sonra bile yüksek dereceli ülser riskinde artış ile güçlü genetik duyarlılık bulunmuştur (2). Ayrıca Ahmad ve arkadaşları serum IL-6 seviyeleri ile diyabetik ayak ülser şiddeti arasında pozitif bir korelasyon gözlemlemişlerdir (182). Çalışmamızdaki 207 kişi gen polimorfizm çalışması için yeterli olsa da alt gruplara ayrıldığında kişi sayısı az sayıda kalması nedeniyle istatistik yapılamamıştır.

Viswanathan ve arkadaşlarının diyabetik ayak ülser derecesi ile genetik ilişkisini araştıran çalışmada aynı zamanda IL-6 (−174 G>C), TNF-α (−308 G>A), TNF-α (-238 G>A) ve SDF-1 (+801G>A) TNP'lerinin enfeksiyon etkenleri ile ilişkisi de incelenmiştir. Çalışmada her DAÜ olan hastalarda en az bir bakteriyel etken bulunmuş. Yapılan çalışmada IL-6 (−174 G>C) ve TNF-α (−308 G>A) gen polimorfizmlerinin mutant genotiplerinde *Staphylococcus spp*., *Proteus morganii* ve *Citrobacter diversus* diyabetik ayak enfeksiyonlarına karşı artan duyarlılık gösterilmiştir. TNF-α (-238 G>A) gen polmorfizminin mutant genotiplerinde ise *Proteus morganii* ve *Enterococcus spp*.'e karşı artan duyarlılık gösterilmiş ancak karıştırıcı değişkenler için düzenleme yapıldıktan sonra ilişki kaybolmuştur. SDF-1 (+801G>A) ile ilgili mutant genotipler ile *Staphylococcus spp*. arasında orta derecede ilişkili bulunmuştur (2). Yapılan bu çalışmadaki sonuçlar Kafkas popülasyonundaki deri enfeksiyonları ile TNF-α (−308 G>A) ve IL-6 (−174 G>C)'nın güçlü genetik ilişkisini gösteren ancak TNF-α (-238 G>A) ile bir genetik ilişki bulmayan Stappers ve arkadaşlarının çalışmasına oldukça uygundur (168). Başka bir çalışmada da, TNF-α (−308G> A) gen polimorfizmi kronik alt ekstremite enfeksiyonları riskinde artış ile ilişkili bulunmuştur (89). Bizim çalışmamızda ise IL-6 (-174 G>C), doğal genotip (GG) ile mutant genotipler (GC+CC) karşılaştırıldığında artan duyarlılık gösteren mikroorganizma saptanmadı. TNF-α (-

238 G>A) doğal genotipe (GG) karşı mutant genotipler (GA+AA) karşılaştırıldığında artan duyarlılık gösteren mikroorganizma saptanmadı.

Diyabetik ayak ülserlerinin doğru yönetimi ampütasyon oranlarını azaltmak için çok önemlidir. Ampütasyon, diyabetik hastalarda bozulmuş yara iyileşmesinin istenmeyen sonucudur. Diyabet hastalarında ekstremite kaybının belirleyici faktörleri, tedavileri optimize etmemize yardımcı olabilir (183). Çalışmamızda diyabetik ayak enfeksiyonu olan 87 hastanın %75.9'una debridman, %27.6'sına amputasyon uygulanmıştır. Uygulanan cerrahi tedavi prosedürleri ile IL-6 (-174 G>C) sitokin gen polimorfizmi arasında ilişki saptanmamıştır. Literatürde diyabetik ayak tanılı hastaların cerrahi tedavi sonuçları ile gen polimorfizmleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı nispeten az çalışma mevcuttur. Bu nedenle çalışmamızdaki bazı bulguların tek bir yayınla kıyaslaması yapılabilmiştir. Viswanathan ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptıkları benzer bir çalışmada SDF-1 (+801G>A) gen polimorfizmi ile majör ampütasyon uygulanan diyabetik ayak ülseri hastaları arasındaki ilişki karıştırıcı değişkenler için düzenleme yapıldıktan sonra da anlamlılık göstermiştir. Bununla birlikte aynı çalışmada IL-6 (−174 G>C), TNF-α (−308 G>A) ve TNF-α (-238 G>A) sitokin gen polimorfizmleri ile ilişki bulunmamıştır (2). Başka bir çalışmada ısı şok proteini 70 gen polimorfizminin diyabetik ayak ülser dereceleri ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu, uzun süre hastanede yatmayı gerektirdiği ve ayrıca artmış ampütasyon riski olduğu bulunmuştur (184). Ampütasyona uğrayacak hastaları tahmin etmek için Karakaş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada IL-6'nın DAÜ hastalarında alt extremite ampütasyonu için prediktif değere sahip olabileceği gösterilmiştir. Tedavi yanıtını değerlendirmek ve sonunda ampütasyona uğrayacak hastaları tahmin etmek için yeni belirteçlere ihtiyaç vardır (183).

Osteomiyelit, mikroorganizmanın infeksiyöz ve inflamatuar süreçlerle kemik dokuda hasar yaratması ile karakterize tedavisi zor bir hastalıktır. Osteomiyelit tıbbi ve cerrahi yönetimdeki gelişmelere rağmen dünya çapında önemli morbiditeye neden olur. Bu kemik enfeksiyonunun klinik seyri ve sonucu aynı yaş, cinsiyet, mikroorganizma ve tutulan kemik arasında bile hastadan hastaya farklılık gösterir. Bu nedenlerden dolayı osteomiyelitli hastaların genetik geçmişi hastalığa yatkınlığa ve kötü klinik sonuca işaret edebilir veya sorumlu olabilir (185).

2007 yılında yapılan bir çalışmada Bax geninde G(-248)A promoter polimorfizmi osteomiyelitli hastalarda daha sık olduğu bulunmuştur. Bu bulgular osteomiyelit patogenezi ile ilişkilendirilmiştir (185). Osteomiyelit hastalarında IL-1, IL-6 ve TNF-α gibi proinflamatuar sitokin düzeylerinin arttığı bildirilmiştir. Özellikle IL-1β, IL-6, TNF-α ve IL-4 gibi sitokinler osteomiyelitte meydana gelen kemik desorpsiyonu ve osteoklast aktivitesi regülasyonunda doğrudan yer almaktadır ve bu nedenle osteomiyelit patogenezinde rol oynamaktadır. Tsezou ve arkadaşları tarafından sitokin gen polimorfizmleri ile osteomiyelit arasındaki ilişki ve sitokin genlerindeki genetik değişkenliğin osteomiyelite yatkınlık oluşturup oluşturmayacağı araştırılmıştır. IL-1α -889-C/T, IL-4 -1098-G/T ve -590-C/T ve IL-6 -174-G/C polimorfizmleri arasında önemli genotipik ve allelik ilişkiler gözlenmiştir. İlk defa bu çalışmada IL-6 −174 G/C'de CC genotipine sahip bireylerin osteomiyelit için yedi kat daha yüksek riske sahip olduğu gözlemlenmiştir. IL-6 −174 G/C için C aleli için homozigositenin (CC genotipi) bireylere mikrobiyal enfeksiyonlara (stafilokok ve gram-negatif bakteri, $P<0.001$) karşı artan bir duyarlılık sağladığı ve muhtemelen mikroorganizmalara olan enflamatuar reaksiyonlarını değiştirdiği ileri sürülmüştür. IL-6'nın, osteoklast fonksiyonunu etkilediği ve kemik erimesini uyardığı için Yunan popülasyonunda osteomiyelit patogenezinde rol oynadığı bildirilmiştir (186). Bizim çalışmamızda diyabetik ayak enfeksiyonu olan hastalarda IL-6 (−174 G>C) GG genotipinde (%53.1), mutant genotiplere (GC+CC) (%28.9) kıyasla önemli ölçüde daha yüksek osteomiyelit gözlendi. Diyabetik ayak hastalarında literatürde ilk kez IL-6 (−174 G>C) sitokin gen polimorfizmi ile osteomiyelit arasında pozitif bir ilişki saptanmıştır. Çalışmamızda Tsezou ve arkadaşlarınının yaptıkları çalışmanın aksine IL-6 −174 G/C'de GG genotipinde osteomiyelit için daha yüksek riske sahip olduğu bulunmuştur. Çalışmamızdan çıkan sonuç ve önceki çalışma değerlendirildiğinde IL-6 (−174 G>C) sitokin gen polimorfizminin osteomiyelit tespitinde olası bir hedef olarak kullanılabileceği öne sürülebilir. Literatürde osteomiyelit ile sitokin gen polimorfizmleri arasındaki ilişkinin incelendiği çok az çalışma vardır. Osteomiyelit patogenezindeki etkisini açıklığa kavuşturmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Adipositler tarafından üretilen TNF-α obezite, insülin direnci ve metabolik sendrom gelişiminde rol olan proinflamatuar bir sitokindir. Obezite tip 2 DM gelişimi için önemli bir risk faktörüdür. Birkaç popülasyona dayalı çalışmada TNF-α polimorfizmleri ve obezite arasında ilişki bulunmuştur. Bir çalışmada İspanyol popülasyonunda TNF-α (−308 G>A) polimorfizminin daha yüksek VKİ ile ilişkili olduğu tespit edilirken, TNF-α (-238 G>A) polimorfizmi ile obezite arasında herhangi bir ilişki tespit edilememiştir (187). İran popülasyonunda yapılan bir çalışmada hem TNF-α (−308 G>A) hem de TNF-α (-238 G>A) promoter polimorfizmleri ile obezite arasında bir ilişki olmadığı ve TNF-α polimorfizmlerinin obezite için bir risk faktörü olmadığı gösterilmiştir (188). Benzer bir sonuçta Walston ve arkadaşları tarafından TNF-α (-238 G>A) ve TNF-α (-308 G>A) polimorfizmlerinin obezite ve insülin direnci ile ilişkili olmadığı bulunmuştur (189). Bir başka çalışmada ise TNF-α (-238 G>A) gen polimorfizminin artmış insülin direnci ve VKİ arasında ilişki saptanmıştır (181). Wernstedt ve arkadaşları IL-6 (−174 G>C) gen polimorfizminin aşırı kilo ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (165). Yaptığımız bu çalışmada DAE tanılı hastalarda sitokin gen polimorfizminin VKİ arasındaki fark incelendiğinde genotipler arasında IL-6 (−174 G>C) polimorfizmi ile anlamlı fark bulunmazken, TNF-α (-238 G>A) polimorfizminde GA genotipinde GG genotipine kıyasla VKİ ortalaması anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Polimorfizmlerin obezite ile ilişkisini inceleyen sonuçlar etnik gruplar arasında farklılık olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte obezite patogenezi ile inflamasyonun rolünün daha fazla araştırılması gerektirdiğini de göstermektedir.

Periferik venöz yetmezlik, alt ekstremite venlerinde bulunan ve kanın yerçekimi etkisiyle geri kaçışına engel olan kapaklarda fonksiyon bozukluğu sonucu oluşan klinik durumdur. Alt ekstremite venöz yetmezliği ve damar duvarında sitokin ekspresyonu olur. Bu sitokinler endotel, makrofaj, düz kas hücreleri tarafından sentezlenir. Venöz yetmezliği olan hastalarda monosit ve makrofajların damar duvarına ve kapaklarına göç ettiği gösterilmiştir. Etyopatogenezinde yaş, cinsiyet, hareketsiz yaşam tarzı gibi birçok faktör rol oynayan venöz yetmezliğin genetik risk faktörleri tam olarak belirlenmemiştir. Son çalışmalar, konneksinler, trombomodülindeki değişiklikler, matriks Gla proteini, Forkhead box protein C2,

hiperhomosisteinemi ve Tip-I plazminojen aktivatör inhibitör polimorfizmlerine odaklanmıştır. Venöz yetmezliğin kan basıncına bağlı inflamatuar bir hastalık olduğu fikrini destekleyen kanıtlar artmaktadır. Çeşitli genetik polimorfizmlerin mekanik ortam değişikliklerine duyarlılığı artırması ve kronik venöz yetmezlik için risk faktörü olması mümkündür (190).

Diyabetik ayak hastalarında periferik venöz yetmezlik patogenezinde TNF ve IL-6 sitokin gen polimorfizmlerinin etkisine dair literatürde veri yoktur. Bu bakımdan çalışmamız özgün değer taşımaktadır. Çalışmamızda DAE hastalarında literatürde ilk kez TNF-α (-238 G>A) GA genotipinde periferik venöz yetmezlik sıklığı GG genotipi olanlara göre (sırasıyla %80.0, %24.4) anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda periferik venöz yetmezlik patogenezinde sitokin gen polimorfizmlerinin rolü olabileceği söylenebilir.

Çalışmamızın kısıtlılıklarının başında hastanemize gelmeden önce hastaların antibiyotik kullanması nedeni ile %21.8'inde etken saptanamamasıdır. Çalışmamızın en büyük kısıtlayıcı yanı ise sınırlı örneklem büyüklüğüdür. Çalışmamızın hasta ve kontrol toplam 207 kişi gen polimorfizm çalışması için yeterli olsa da alt gruplara ayrıldığında kişi sayısı düşük düzeyde kalmıştır. Bu nedenle istatistiksel olarak ülser dereceleriyle, etkenlerle, cerrahi tedavi prosedürleri, klinik ve laboratuvar bulguları ile polimorfizmlere göre farklılık bulunmaması kişi sayısının yeterli olmamasına bağlanabilir. Daha büyük serilerle çalışmamızın desteklenebileceğini düşünmekteyiz. Üçüncüsü çalışmamızda DAE ile yalnızca IL-6 (−174 G>C) ve TNF-α (−238 G>A) gen polimorfizmi ilişkisinin değerlendirilmiş olmasıdır. Çalışmamızda serum IL-6 ve TNF-α seviyelerine bakılamaması nedeniyle bu gen polimorfizmlerinin serum sitokin seviyelerini kontrol edip etmedikleri değerlendirilememiştir. Bu nedenle ileride yapılacak bir çalışmayla diyabetik ayak enfeksiyonlarındaki sitokin gen polimorfizmleri ile serum sitokin değerleri arasındaki ilişkinin incelenmesinin literatüre önemli katkısı olacağını düşünüyoruz. Bir diğer kısıtlılık ise bulgularımız ve daha önce bahsedilen diğer raporlar arasındaki uyumsuzluk çeşitli popülasyon temelli genetik çalışmalar arasında iyi belgelenmiş olan etnik farklılıklardan kaynaklanıyor olabilmesidir.

6. SONUÇLAR

Türk popülasyonunda diyabetik ayak tanısı almış Tip 2 DM'li hastalarda IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) sitokin gen polimorfizmlerinin diyabetik ayak enfeksiyonu ile arasındaki ilişkinin incelendiği 207 kişinin dahil edildiği prospektif olarak yapılan bu vaka-kontrol çalışmasından elde edilen sonuçlar;

1. Diyabetik ayak enfeksiyonu ile izlenen Tip 2 diabetes mellituslu hasta, diyabetik ayak ülseri olmayan Tip 2 diabetes mellituslu hasta ve kontrol grubu olmak üzere her 3 grupta cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.
2. Diyabetik ayak enfeksiyonu olan hastalarda kontrol grubuna göre yaş ortalaması istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

3. Diyabetik ayak enfeksiyonu olan hastalarda ortalama diyabet süresi 13.7±6.5 yıl bulunarak, diyabetik ayak ülseri olmayan Tip 2 diabetes mellituslu hasta grubuna göre ortalama diyabet süresi açısından anlamlı fark vardır.
4. Kronik böbrek yetmezliği sıklığı diyabetik ayak enfeksiyonu olan hastalarda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olarak tespit edilmiştir.
5. Diyabetik ayak enfeksiyonu olan grupta diyabetik ayak enfeksiyonu olmayan Tip 2 DM grubuna göre lökosit, sedimantasyon, CRP ortalamaları anlamlı düzeyde yüksek olarak tespit edilmiştir.
6. IL-6 (-174 G>C) sitokin gen polimorfizminin genotip dağılımı DAE tanısı olan Tip 2 DM'li hastalar, diyabetik ayak tanısı olmayan Tip 2 DM'li hastalar ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık gösterilmemiştir. IL-6 (-174 G>C) sitokin gen polimorfizminin Türk popülasyonundaki bir bireyin diyabetik ayak enfeksiyonuna yatkınlığını tahmin edemeyeceği ileri sürülmüştür.
7. Türk popülasyonundaki bir bireyin Tip 2 diyabet gelişiminde IL-6 (-174 G>C) sitokin gen polimorfizminin bir rol oynamadığı gösterilmiştir.
8. TNF-α (-238 G>A) sitokin gen polimorfizminin genotip dağılımı DAE tanısı olan Tip 2 DM'li hastalar, diyabetik ayak tanısı olmayan Tip 2 DM'li hastalar ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermemesi nedeniyle Türk popülasyonundaki bir bireyin diyabetik ayak enfeksiyonuna yatkınlığını tahmin edemeyeceği ileri sürülmüştür.
9. Türk popülasyonundaki bir bireyin Tip 2 diyabet gelişiminde TNF-α (-238 G>A) sitokin gen polimorfizminin rol oynamadığı gösterilmiştir.
10. Diyabetik ayak enfeksiyonu tanılı hastaların IL-6 (-174 G>C) sitokin gen polimorfizminin uygulanan cerrahi tedavi prosedürlerine (debridman ve ampütasyon) yatkınlık veya koruyuculuk oluşturması yönüyle herhangi bir rol oynamadığı gösterilmiştir.
11. Diyabetik ayak enfeksiyonu olan hastalarda IL-6 (−174 G>C) polimorfizminin GG genotipinin osteomiyelit için önemli bir risk faktörü olduğu ve bu polimorfizmin bireyin osteomiyelite yatkınlığını tahmin

etmek için potansiyel bir aday genetik belirteç olabileceği ortaya çıkmıştır.

12. Diyabetik ayak enfeksiyonu olan hastalarda TNF-α (-238 G>A) polimorfizminin GA genotipinde VKİ ortalaması anlamlı derecede yüksek bulunmasıyla, bu polimorfizmin obezite gelişimi için bir risk faktörü olabileceği ortaya çıkmıştır.
13. Diyabetik ayak enfeksiyonu olan hastalarda TNF-α (-238 G>A) polimorfizminin GA genotipinin periferik venöz yetmezlik patogenezinde önemli bir rol oynayabileceği gösterilmiştir.

Sonuç olarak, elde ettiğimiz bu bilgiler gelecekte diyabetik ayak enfeksiyonun genetik yönünün aydınlatılması için yapılacak çalışmalara temel oluşturmaktadır. Diyabetik ayak enfeksiyonu gelişiminde proinflamatuar sitokinlerin genetik rolünü aydınlatmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Daha büyük serilerle yapılacak olan gen polimorfizm çalışmalarının hastalığın gelişiminde genetiğin rolünü açıklayabileceği, riskli bireylerin tanımlanmasını sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Zubair M, Ahmad J. Role of growth factors and cytokines in diabetic foot ulcer healing: A detailed review. Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders. 2019;20(2):207-17.
2. Viswanathan V, Dhamodharan U, Srinivasan V, et al. Single nucleotide polymorphisms in cytokine/chemokine genes are associated with severe infection, ulcer grade and amputation in diabetic foot ulcer. International Journal of Biological Macromolecules. 2018;118:1995-2000.
3. Yılmaz T, Kaya A, Balcı MK, ve ark. Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi. İstanbul: Türkiye Diyabet Vakfı. 2017; 7.Baskı

4. İliçin G, Biberoğlu K, Süleymanlar G, Ünal S. Diabetes Mellitus Tanımı, In: Ayvaz G, eds İç Hastalıkları Cilt 2, 2.Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi; 2003. 2295-9.
5. International Diabetes Federation. Diabetes Atlas 8th edition. International Diabetes Federation; 2017.
6. Satman I, Yilmaz T, Sengül A, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). Diabetes Care. 2002;25(9):1551-6.
7. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. European Journal of Epidemiology. 2013;28(2):169-80.
8. Wiener C, Fauci A, Braunwald E, et al. Harrisons Principles of Internal Medicine Self-Assessment and Board Review 18th Edition: McGraw Hill Professional; 2012.
9. Adeghate E, Schattner P, Dunn E. An update on the etiology and epidemiology of diabetes mellitus. Annals of The New York Academy of Sciences. 2006;1084(1):1-29.
10. Korugan Ü. Diabetes Mellitus Genetiği, Tarihçesi, Sınıflaması ve Sıklığı. İçinde: İlkova H, editör. Diabetes Mellitus. İÜCTF Sürekli Tıp Eğitimi Komisyonu Yayın; 1997.
11. American Diabetes Association. 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes—2019. Diabetes Care. 2019;42(1):13-28.
12. TEMD Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu, 2017. Ankara. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. 2017;9.Baskı.
13. Morbach S, Furchert H, Gröblinghoff U, et al. Long-term prognosis of diabetic foot patients and their limbs: amputation and death over the course of a decade. Diabetes Care. 2012;35(10):2021-7.
14. Atmaca M, Dilek İ, Atmaca B, ve ark. Yeni Tanı Tip 2 Diabetes Mellituslu Hastalarda Mikrovasküler Komplikasyonların Görülme Sıklığı. Van Tıp Dergisi. 2010;17(4):124-30.

15. Forbes JM, Cooper ME. Mechanisms of diabetic complications. Physiological Reviews. 2013;93(1):137-88.
16. Gupta S, Koirala J, Khardori R, Khardori N. Infections in diabetes mellitus and hyperglycemia. Infectious Disease Clinics of North America. 2007;21(3):617-38.
17. Peleg AY, Weerarathna T, McCarthy JS, Davis TM. Common infections in diabetes: pathogenesis, management and relationship to glycaemic control. Diabetes/Metabolism Research and Reviews. 2007;23(1):3-13.
18. Mor A, Berencsi K, Nielsen JS, et al. Rates of community-based antibiotic prescriptions and hospital-treated infections in individuals with and without type 2 diabetes: a Danish nationwide cohort study, 2004–2012. Clin Infect Dis. 2016;63(4):501.
19. Cooke FJ. Infections in people with diabetes. Medicine. 2015;43(1):41-3.
20. Çelikbaş A. Diyabet seyrinde gelişen enfeksiyonlarda immünopatogenez. Klimik Dergisi. 2005;18(1):17-20.
21. Casqueiro J, Casqueiro J, Alves C. Infections in patients with diabetes mellitus: A review of pathogenesis. Indian Journal of Endocrinology and Metabolism. 2012;16(1):S27.
22. Singh SK, Sridhar GR. Infections and diabetes. Int J Diabetes Dev Ctries. 2015;35(2):59-62
23. Atreja A, Kalra S. Infections in diabetes. Primary Care Diabetes. 2015;65(9):1028-30.
24. Muller LM, Gorter KJ, Hak E, et al. Increased risk of common infections in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. Clin Infect Dis. 2005;41(3):281-8.
25. Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, et al. 2012 Infectious Diseases Society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. Clin Infect Dis. 2012;54:1679-84.
26. Akıncı E. Diyabetik ayak infeksiyonu. Klimik Dergisi. 2005;18(1):6-7.
27. Lipsky BA, Aragón-Sánchez J, Diggle M, et al. International Working Group on the Diabetic Foot (IWGDF). IWGDF Guidance on the diagnosis and

management of foot infections in persons with diabetes. Diabetes Metab Res Rev. 2016;32(1):45-74.

28. Öztürk H, Kalpakçı P, Sezer RE, ve ark. Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi'nde 2007-2012 döneminde diyabetik ayağa bağlı operasyon olan hastaların özellikleri ile yaş ve cinsiyetin diyabetik ayak operasyonlarını tahmin ettirici etkisi. Türkiye Aile Hekimliği Dergisi. 2014;18(2):54-7.
29. Kahraman C, Yümün G, Kahraman NK, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio in diabetes mellitus patients with and without diabetic foot ulcer. Eur J Med Sci. 2014;1(1):8-13.
30. Chun D-i, Kim S, Kim J, et al. Epidemiology and burden of diabetic foot ulcer and peripheral arterial disease in Korea. Journal of Clinical Medicine. 2019;8(5):748.
31. Bowling FL, Rashid ST, Boulton AJ. Preventing and treating foot complications associated with diabetes mellitus. Nature Reviews Endocrinology. 2015;11(10):606.
32. Boulton AJ, Vileikyte L, Ragnarson-Tennvall G, Apelqvist J. The global burden of diabetic foot disease. The Lancet. 2005;366(9498):1719-24.
33. Won SH, Chung CY, Park MS, et al. Risk factors associated with amputation-free survival in patient with diabetic foot ulcers. Yonsei Med J. 2014;55(5):1373-8.
34. Zhang P, Lu J, Jing Y, et al. Global epidemiology of diabetic foot ulceration: a systematic review and meta-analysis. Annals of Medicine. 2017;49(2):106-16.
35. Driver VR, Fabbi M, Lavery LA, Gibbons G. The costs of diabetic foot: the economic case for the limb salvage team. Journal of Vascular Surgery. 2010;52(3):17-22.
36. Ertugrul MB. Diyabetik Ayak Enfeksiyonları. İçinde: Wilke A, Söyletir G, Doğanay M, editör. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi 4. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2017. p1169-78.
37. Saltoğlu N, Kılıçoğlu Ö, Baktıroğlu S, et al. Diyabetik ayak yarası ve infeksiyonunun tanısı, tedavisi ve önlenmesi: Uzlaşı Raporu. Klimik Dergisi. 2015;18(1):2-34.

38. Noor S, Zubair M, Ahmad J. Diabetic foot ulcer—A review on pathophysiology, classification and microbial etiology. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinic Research & Reviews. 2015;9:192-9.
39. Tanenberg RJ, Schumer MP, Greene DA, Pfeifer MA. Neuropathic problems of the lower extremities in diabetic patients. In: Bowker JH, Pfeifer MA, eds. The Diabetic Foot. Sixth ed. Philadelphia: Harcourt Health Sciences; 2001. p33-64.
40. Kanatlı U. Diyabetik ayak enfeksiyonları. TOTBID Dergisi. 2011;10(4):296-305.
41. Lipsky BA, Berendt AR, Deery HG, et al. Diagnosis and treatment of diabetic foot infections. Clin Infect Dis. 2004;39(7):885-910.
42. Baltzis D, Eleftheriadou I, Veves A. Pathogenesis and treatment of impaired wound healing in diabetes mellitus: new insights. Advances in Therapy. 2014;31(8):817-36.
43. Arya AK, Tripathi K, Das P. Promising role of ANGPTL4 gene in diabetic wound healing. The International Journal of Lower Extremity Wounds. 2014;13(1):58-63.
44. American Diabetes Association. Consensus Development Conference on Diabetic Foot Wound Care: 7-8 April 1999, Boston, Massachusetts. American Diabetes Association. Diabetes Care. 1999;22(8):1354-60.
45. Arya AK, Pokharia D, Tripathi K. Relationship between oxidative stress and apoptotic markers in lymphocytes of diabetic patients with chronic non healing wound. Diabetes Research and Clinical Practice. 2011;94(3):377-84.
46. Lan CC, Liu IH, Fang AH, et al. Hyperglycaemic conditions decrease cultured keratinocyte mobility: implications for impaired wound healing in patients with diabetes. British Journal of Dermatology. 2008;159(5):1103-15.
47. Soneja A, Drews M, Malinski T. Role of nitric oxide, nitroxidative and oxidative stress in wound healing. Pharmacological Reports. 2005;57:108.
48. Roosterman D, Goerge T, Schneider SW, et al. Neuronal control of skin function: the skin as a neuroimmunoendocrine organ. Physiological Reviews. 2006;86(4):1309-79.

49. Alkayyali S, Lyssenko V. Genetics of diabetes complications. Mammalian Genome. 2014;25(9-10):384-400.
50. Singh K, Agrawal NK, Gupta SK, Singh K. A functional single nucleotide polymorphism-1562C> T in the matrix metalloproteinase-9 promoter is associated with type 2 diabetes and diabetic foot ulcers. The International Journal of lower Extremity Wounds. 2013;12(3):199-204.
51. Wang Y, Su Y, Xu Y, et al. Genetic polymorphism c. 1562C> T of the MMP-9 is associated with macroangiopathy in type 2 diabetes mellitus. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2010;391(1):113-7.
52. Amoli MM, Hasani-Ranjbar S, Roohipour N, et al. VEGF gene polymorphism association with diabetic foot ulcer. Diabetes Research and Clinical Practice. 2011;93(2):215-9.
53. Li X, Lu Y, Wei P. Association between VEGF genetic variants and diabetic foot ulcer in Chinese Han population: A case–control study. Medicine. 2018;97(20):e10672.
54. Dhamodharan U, Viswanathan V, Krishnamoorthy E, et al. Genetic association of IL-6, TNF-α and SDF-1 polymorphisms with serum cytokine levels in diabetic foot ulcer. Gene. 2015;565(1):62-7.
55. Schaper NC, Apelqvist J, Bakker K. The international consensus and practical guidelines on the management and prevention of the diabetic foot. Current Diabetes Reports. 2003;3(6):475-9.
56. Wagner FW. The dysvascular foot: system for diagnosis and treatment. Foot & Ankle. 1981;2(2):64-122.
57. https://www.memorangapp.com/flashcards/149210/Prism+-+pg.+33-34/ [erişim 18 Ekim 2020]
58. Jain AK, Joshi S. Diabetic foot classifications: Review of literature. Medicine Science. 2013;2(3):715-21.
59. Lavery LA, Armstrong DG, Murdoch DP, et al. Validation of the Infectious Diseases Society of America's diabetic foot infection classification system. Clin Infect Dis. 2007;44(2):562-5.

60. Lebowitz D, Gariani K, Kressmann B, et al. Are antibiotic-resistant pathogens more common in subsequent episodes of diabetic foot infection? International Journal of Infectious Diseases. 2017;59:61-4.
61. Hatipoglu M, Mutluoglu M, Uzun G, et al. The microbiologic profile of diabetic foot infections in Turkey: a 20-year systematic review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2014;33(6):871-8.
62. Saltoglu N, Ergonul O, Tulek N, et al. Influence of multidrug resistant organisms on the outcome of diabetic foot infection. International Journal of Infectious Diseases. 2018;70:10-4.
63. Lipsky BA. Diagnosing and treating diabetic foot infections. Klimik Dergisi. 2009;22(1):2-13.
64. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Staphylococcus aureus resistant to vancomycin--United States, 2002. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2002;51(26):565-7.
65. Kandemir Ö, Akbay E, Şahin E, et al. Risk factors for infection of the diabetic foot with multi-antibiotic resistant microorganisms. Journal of Infection. 2007;54(5):439-45.
66. Del Castillo JG, Blanes Mompo JI. Treating diabetic foot infection in the emergency department: fundamental considerations. Emergencias. 2012;24:211-8.
67. Young H, Knepper B, Hernandez W, et al. Pseudomonas aeruginosa: An uncommon cause of diabetic footiInfection. JAMPA. 2015;105(2):125-9.
68. Ertugrul BM, Lipsky BA, Ture M, Sakarya S. Risk factors for infection with Pseudomonas aeruginosa in diabetic foot infections. JAMPA. 2017;107(6):483-9.
69. Demir T, AKINCI B, Yeşil S. Diyabetik ayak ülserlerinin tanı ve tedavisi. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2007;21(1):63-70.
70. Uçkay I, Gariani K, Pataky Z, Lipsky BA. Diabetic foot infections: state-of-the-art. Diabetes, Obesity and Metabolism. 2013;16(4):305-16.
71. Shi E, Shofler D. Maggot debridement therapy: A systematic review. British Journal of Community Nursing. 2014;19(12):6-13.

72. Bader MS. Diabetic foot infection. American Family Physician. 2008;78(1):71-9.
73. Klug SW, Cummings MR, Spencer CA. Genetik kavramlar. Sümer S, Öner R, Öğüş A, Açık L, editör. 8.Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2009. p70-71.
74. Başaran N. Tıbbı Genetik Ders Kitabı. 8. Baskı. İstanbul: Güneş & Nobel Tıp Kitabevi; 2003.
75. Emir F, Özden A. Genetik polimorfizm ve polimorfizm çalışmaları. Güncel Gastroenteroloji. 2006;10(1):24-8.
76. Lüleyap HÜ. Moleküler Genetiğin Esasları. Adana: Nobel Kitabevi; 2008. p168-210, 381-383.
77. Yuluğ I. İnsan genom projesi. Avrasya Dosyası, Molekuler Biyoloji ve Gen Teknolojileri Özel. 2002;8(3):7-23.
78. Deligezer U, Akışık E, Dalay N. Gen Polimorfizm Analizinde LightCycler Floresan PCR Tekniğinin Kullanılması: Myeloid Lösemili Çocuk ve Yetişkin Hastalarda MTHFR C677T Gen Polimorfizm Dağılımının Belirlenmesi. Türk Onkoloji Dergisi. 2004;19(4):134-9.
79. Nordfors L, Luttropp K, Carrero JJ, et al. Genetic studies in chronic kidney disease: basic concepts. J Nephrol. 2012;25(2):141-9.
80. Battaloğlu E, Başak AN. Kompleks hastalık genetiği: güncel kavramlar ve nörolojik hastalıkların tanısında kullanılan genomik yöntemler. Klinik Gelişim Dergisi. 2010;23:128-33.
81. Liu Y. Genetic Diversity and Disease Susceptibility. In: Sukhumsirichart W, editor. Polymorphisms. IntechOpen; 2018. p5.
82. Brookes AJ. The essence of SNPs. Gene. 1999;234(2):177-86.
83. Forsberg L, de Faire U, Marklund SL, et al. Phenotype determination of a common Pro-Leu polymorphism in human glutathione peroxidase 1. Blood Cells, Molecules and Diseases. 2000;26(5):423-6.
84. Büyüköztürk K. İç Hastalıkları Cilt 1. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1992.
85. Bidwell J, Keen L, Gallagher G, et al. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. Genes & Immunity. 1999;1(1):3-19.
86. Gallagher G, Eskdale J, Bidwell JL. Cytokine genetics-polymorphisms, functional variations and disease associations. In: Thomson AW, Lotze MT,

editors. The cytokine handbook. 4th ed. London: Academic Press; 2003. p19-55.

87. Erdogan M, Kulaksizoglu M, Solmaz S, Berdeli A. The relationship of Interleukin-6 -174 G>C gene polymorphism in type 2 diabetic patients with and without diabetic foot ulcers in Turkish population. The Foot. 2017;30:27-31.

88. Wei Q, Chen X, Chen H. Association of Single Nucleotide Polymorphisms of the IL-6, IL-10, and TNF-α Genes with Susceptibility to Gestational Diabetes Mellitus. Genetic Testing and Molecular Biomarkers. 2020;24(7):390-8.

89. Zagozda M, Sarnecka A, Staszczak Z, et al. Genetic Polymorphism and Messenger Ribonucleic Acid Concentrations of TNFα and TGFβ Genes in Patients with Chronic Lower Limb Infections. Surgical Infections. 2015;16(6):822-8.

90. Wifi M-NA, Assem M, Elsherif RH, et al. Toll-like receptors-2 and -9 (TLR2 and TLR9) gene polymorphism in patients with type 2 diabetes and diabetic foot. Medicine. 2017;96(17):e6760.

91. Teena R, Dhamodharan U, Ali D, Rajesh K, Ramkumar KM. Genetic Polymorphism of the Nrf2 Promoter Region (rs35652124) Is Associated with the Risk of Diabetic Foot Ulcers. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2020; Article ID 9825028, 9.

92. D'Onofrio V, Monnier AA, Kremer C, et al. Lesion size is associated with genetic polymorphisms in TLR1, TLR6, and TIRAP genes in patients with major abscesses and diabetic foot infections. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2020;39(2):353-60.

93. Cui J, Zhang X, Guo C, Zhang L. The association of Interieukin-6 polymorphism (rs1800795) with microvascular complications in type 2 diabetes mellitus. Biosci Rep. 2020.

94. Zubair M, Ahmad J. Heat shock protein 70 gene single nucleotide polymorphism and diabetic foot ulcer. Is there any relationship? Journal of Clinical Medicine. 2018;7(8):187.

95. Erdogan M, Kulaksizoglu M, Tetik A, et al. The relationship of the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and vascular endothelial growth factor (VEGF)

gene polymorphism in Turkish type 2 diabetic patients with and without diabetic foot ulcers. The Foot. 2018;37:5-10.

96. Mehmet E, Zuhal E, Mustafa K, et al. The relationship of the apolipoprotein E gene polymorphism in Turkish Type 2 Diabetic Patients with and without diabetic foot ulcers. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews. 2016;10(1):30-3.
97. Sheehan C. Clinical immunology: principles and laboratory diagnosis. Second ed. Lippincott Philadelphia; 1997.
98. Rosa MS, Pinto AM. Cytokines. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, editors. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics, 4th Ed. Missouri: Elsevier Saunders, 2006: 645-744.
99. http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=IL6 [erişim 16 Ekim 2020]
100. Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, et al. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. Biochemical Journal. 2003;374(1):1-20.
101. Heinrich PC, Behrmann I, Müller-Newen G, et al. Interleukin-6-type cytokine signalling through the gp130/Jak/STAT pathway. Biochemical Journal. 1998;334(2):297-314.
102. Khan MM. Role of cytokines. In: Immunopharmacology: Springer; 2008. p33-59.
103. DeMichele A, Martin A-M, Mick R, et al. Interleukin-6− 174G→ C polymorphism is associated with improved outcome in high-risk breast cancer. Cancer Research. 2003;63(22):8051-6.
104. Heikkilä K, Ebrahim S, Lawlor DA. Systematic review of the association between circulating interleukin-6 (IL-6) and cancer. European Journal of Cancer. 2008;44(7):937-45.
105. Stenvinkel P, Pecoits-Filho R, Lindholm B. Gene polymorphism association studies in dialysis: the nutrition-inflammation axis. Semin in Dial; 2005;18:322-30.
106. Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, Mohamed-Ali V. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? Atherosclerosis. 2000;148(2):209-14.

107. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 2014;6(10):a016295.
108. Palomares O, Martin-Fontecha M, Lauener R, et al. Regulatory T cells and immune regulation of allergic diseases: roles of IL-10 and TGF-β. Genes & Immunity. 2014;15(8):511-20.
109. Taga T, Kishimoto T. Interleukin-6 Humon cytokines: handbook for basic and clinical research. Aggarwal BB, Gutterman JU eds. Boston: Blackwell Scientific;1992.p143-167.
110. Kristiansen OP, Mandrup-Poulsen T. Interleukin-6 and diabetes: the good, the bad, or the indifferent? Diabetes. 2005;54(2):114-24.
111. Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, et al. A meta-analysis of cytokines in major depression. Biological Psychiatry. 2010;67(5):446-57.
112. Swardfager W, Lanctôt K, Rothenburg L, et al. A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease. Biological Psychiatry. 2010;68(10):930-41.
113. Tackey E, Lipsky P, Illei G. Rationale for interleukin-6 blockade in systemic lupus erythematosus. Lupus. 2004;13(5):339-43.
114. Nishimoto N. Interleukin-6 in rheumatoid arthritis. Current Opinion in Rheumatology. 2006;18(3):277-81.
115. Cota LOM, Viana MB, Moreira PR, et al. Gingival overgrowth in cyclosporine, tacrolimus, or sirolimus-based immunosuppressive regimens and the single nucleotide IL-6 (− 174 G/C) gene polymorphism. Archives of Oral Biology. 2010;55(7):494-501.
116. Terry CF, Loukaci V, Green FR. Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation. Journal of Biological Chemistry. 2000;275(24):18138-44.
117. Fishman D, Faulds G, Jeffery R, et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. The Journal of Clinical Investigation. 1998;102(7):1369-76.
118. Sánchez-Velasco P, Rodrigo E, Fernández-Fresnedo G, et al. Influence of interleukin-6 promoter polymorphism− 174 G/C on kidney graft outcome. Transplantation Proceedings. 2010;42(8):2854-55.

119. Müller-Steinhardt M, Härtel C, Müller B, et al. The interleukin-6-174 promoter polymorphism is associated with long-term kidney allograft survival. Kidney International. 2002;62(5):1824-7.
120. Nikolova PN, Ivanova MI, Mihailova SM, et al. Cytokine gene polymorphism in kidney transplantation—Impact of TGF-β1, TNF-α and IL-6 on graft outcome. Transplant Immunology. 2008;18(4):344-8.
121. Humphries S, Luong L, Ogg M, et al. The interleukin-6− 174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men. European Heart Journal. 2001;22(24):2243-52.
122. Losito A, Kalidas K, Santoni S, Jeffery S. Association of interleukin-6-174G/C promoter polymorphism with hypertension and left ventricular hypertrophy in dialysis patients. Kidney International. 2003;64(2):616-22.
123. Godarzi EM, Sarvestani EK, Aflaki E, Amirghofran Z. Interleukin-6 gene polymorphism in Iranian patients with systemic lupus erythematosus. Clinical Rheumatology. 2011;30(2):179-84.
124. Spasojević-Dimitrijeva B, Živković M, Stanković A, et al. The IL-6− 174G/C polymorphism and renal scarring in children with first acute pyelonephritis. Pediatric Nephrology. 2010;25(10):2099-106.
125. Bennermo M, Held C, Green F, et al. Prognostic value of plasma interleukin-6 concentrations and the− 174 G> C and− 572 G> C promoter polymorphisms of the interleukin-6 gene in patients with acute myocardial infarction treated with thrombolysis. Atherosclerosis. 2004;174(1):157-63.
126. Lieb W, Pavlik R, Erdmann J, et al. No association of interleukin-6 gene polymorphism (− 174 G/C) with myocardial infarction or traditional cardiovascular risk factors. International Journal of Cardiology. 2004;97(2):205-12.
127. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. Circulation. 2000;101(15):1767-72.
128. Fernández-Real J-M, Broch M, Vendrell Cristóbal Richart J, Ricart W. Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2000;85(3):1334-9.

129. Upadhyay R, Jain M, Kumar S, et al. Association of interleukin-6 (− 174G> C) promoter polymorphism with risk of squamous cell esophageal cancer and tumor location: An exploratory study. Clinical Immunology. 2008;128(2):199-204.
130. Yalcın S, Kayaaltı Z, Söylemezoğlu T. Role of interleukin-6− 174 G/C promoter polymorphism in trace metal levels of autopsy kidney and liver tissues. International Journal of Hygiene and Environmental Health. 2011;214(3):219-24.
131. Bennermo M, Held C, Stemme S, et al. Genetic predisposition of the interleukin-6 response to inflammation: implications for a variety of major diseases? Clinical Chemistry. 2004;50(11):2136-40.
132. Brull D, Montgomery H, Sanders J, et al. Interleukin-6 gene− 174G> C and− 572G> C promoter polymorphisms are strong predictors of plasma interleukin-6 levels after coronary artery bypass surgery. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology. 2001;21(9):1458-63.
133. https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=TNF&keywords=tnf,gene [erişim 17 Ekim 2020]
134. Tas F, Karabulut S, Yasasever CT, Duranyildiz D. Serum transforming growth factor-beta 1 (TGF-β1) levels have diagnostic, predictive, and possible prognostic roles in patients with melanoma. Tumor Biology. 2014;35(7):7233-7.
135. Hodny Z, Reinis M, Hubackova S, et al. Interferon gamma/NADPH oxidase defense system in immunity and cancer. Oncoimmunology. 2016;5(2):e1080416.
136. Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. The roles of IFNγ in protection against tumor development and cancer immunoediting. Cytokine & Growth Factor Reviews. 2002;13(2):95-109.
137. Luo D, Luo Y, He Y, et al. Differential functions of tumor necrosis factor receptor 1 and 2 signaling in ischemia-mediated arteriogenesis and angiogenesis. The American Journal of Pathology. 2006;169(5):1886-98.
138. Roitt IM, Delves PJ. Roitt‘s Essential Immunology. In: The Production of Effectors. 1Oth ed. London: Blackwell Science; 2001. p226-62.

139. Akdoğan M, Yöntem M. Sitokinler. Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi. 2018;3(1):36-45.
140. Kim H-K, Han H, Choi H-B, et al. Distribution of seven polymorphic markers and haplotypes within the human TNF gene cluster in Koreans. Human Immunology. 2000;61(12):1274-80.
141. Jongeneel CV, Briant L, Udalova IA, et al. Extensive genetic polymorphism in the human tumor necrosis factor region and relation to extended HLA haplotypes. Proceedings of The National Academy of Sciences. 1991;88(21):9717-21.
142. Quasney MW, Bronstein DE, Cantor RM, et al. Increased frequency of alleles associated with elevated tumor necrosis factor-α levels in children with Kawasaki disease. Pediatric Research. 2001;49(5):686-90.
143. Karam RA, Zidan HE, Khater MH. Polymorphisms in the TNF-α and IL-10 gene promoters and risk of psoriasis and correlation with disease severity. Cytokine. 2014;66(2):101-5.
144. Kaluza W, Reuss E, Grossmann S, et al. Different transcriptional activity and in vitro TNF-α production in psoriasis patients carrying the TNF-α 238A promoter polymorphism. Journal of Investigative Dermatology. 2000;114(6):1180-3.
145. Reich K, Mössner R, Neumann C, et al. Promoter polymorphisms of the genes encoding tumor necrosis factor-α and interleukin-1β are associated with different subtypes of psoriasis characterized by early and late disease onset. Journal of Investigative Dermatology. 2002;118(1):155-63.
146. van Heel DA, Udalova IA, De Silva AP, et al. Inflammatory bowel disease is associated with a TNF polymorphism that affects an interaction between the OCT1 and NF-κB transcription factors. Human Molecular Genetics. 2002;11(11):1281-9.
147. El-Tahan RR, Ghoneim AM, El-Mashad N. TNF-α gene polymorphisms and expression. Springerplus. 2016;5(1):1-7.
148. Navarro JF, Mora C. Role of inflammation in diabetic complications. Nephrology Dialysis Transplantation. 2005;20(12):2601-4.

149. Kumaramanickavel G, Sripriya S, Vellanki RN, et al. Tumor necrosis factor allelic polymorphism with diabetic retinopathy in India. Diabetes Research and Clinical Practice. 2001;54(2):89-94.
150. Bernard V, Pillois X, Dubus I, et al. The–308 G/A tumor necrosis factor-α gene dimorphism: a risk factor for unstable angina. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). 2003;41(4):511-6.
151. Manchanda PK, Kumar A, Kaul A, Mittal RD. Correlation between a gene polymorphism of tumor necrosis factor-α (G/A) and end-stage renal disease: A pilot study from north India. Clinica Chimica Acta. 2006;370(1-2):152-7.
152. Um J-Y, An N-H, Kim H-M. TNF-α and TNF-β gene polymorphisms in cerebral infarction. Journal of Molecular Neuroscience. 2003;21(2):167-71.
153. Everett E, Mathioudakis N. Update on management of diabetic foot ulcers. Ann N. Y. Acad. Scie. 2018;1411(1):153-165.
154. Saltoglu N, Yemisen M, Ergonul O, et al. Predictors for limb loss among patient with diabetic foot infections: an observational retrospective multicentric study in Turkey. Clin Microbiol Infect. 2015;21(7):659-64.
155. Al-Rubeaan K, Al Derwish M, Ouizi S, et al. Diabetic foot complications and their risk factors from a large retrospective cohort study. PloS One. 2015;10(5):1-17.
156. Lavery LA, Armstrong DG, Wunderlich RP, et al. Risk factors for foot infections in individuals with diabetes. Diabetes Care. 2006;29(6):1288-93.
157. Ahmad W, Khan IA, Ghaffar S, et al. Risk factors for diabetic foot ulcer. Journal of Ayub Medical College Abbottabad. 2013;25(1-2):16-8.
158. Beaney A, Nunney I, Gooday C, Dhatariya K. Factors determining the risk of diabetes foot amputations–A retrospective analysis of a tertiary diabetes foot care service. Diabetes Research and Clinical Practice. 2016;114:69-74.
159. Wiessman MP, Liberty IF, Segev RW, et al. Clinical characteristics and survival of patients with diabetes mellitus following non-traumatic lower extremity amputation. Isr Med Assoc J. 2015;17(3):145-9.
160. Armstrong DG, Lavery LA, Sariaya M, Ashry H. Leukocytosis is a poor indicator of acute osteomyelitis of the foot in diabetes mellitus. The Journal of Foot and Ankle Surgery. 1996;35(4):280-3.

161. Uzun G, Solmazgul E, Curuksulu H, et al. Procalcitonin as a diagnostic aid in diabetic foot infections. The Tohoku Journal of Experimental Medicine. 2007;213(4):305-12.
162. Jirkovska A, Fejfarova V, Hosova J, et al. Analysis of the inflammation reaction and selected indicators of immunity in patients with an infected diabetic ulcer. Casopis Lekaru Ceskych. 2002;141(15):483-6.
163. Ertugrul BM, Savk O, Ozturk B, et al. The diagnosis of diabetic foot osteomyelitis: examination findings and laboratory values. Med Sci Monit. 2009;15(6):307-12.
164. Kubaszek A, Pihlajamäki J, Punnonen K, et al. The C-174G Promoter Polymorphism of the IL-6 Gene Affects Energy Expenditure and Insulin Sensitivity. Diabetes. 2003;52(2):558-61.
165. Wernstedt I, Eriksson AL, Berndtsson A, et al. A common polymorphism in the interleukin-6 gene promoter is associated with overweight. Int J Obes Relat Metab Disord. 2004;28(10):1272-9.
166. Hamid YH, Rose CS, Urhammer SA, et al. Variations of the interleukin-6 promoter are associated with features of the metabolic syndrome in Caucasian Danes. Diabetologia. 2005;48(2):251-60.
167. Bennermo M, Held C, Stemme S, et al. Genetic Predisposition of the Interleukin-6 Response to Inflammation: Implications for a Variety of Major Diseases? Clinical Chemistry. 2004;50(11):2136-40.
168. Stappers MHT, Thys Y, Oosting M, et al. Polymorphisms in cytokine genes IL6 , TNF , IL10 , IL17A and IFNG influence susceptibility to complicated skin and skin structure infections. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2014;33(12):2267-74.
169. Vozarova B, Fernández-Real J-M, Knowler WC, et al. The interleukin-6 (−174) G/C promoter polymorphism is associated with type-2 diabetes mellitus in Native Americans and Caucasians. Human Genetics. 2003;112(4):409-13.
170. Saxena M, Srivastava N, Banerjee M. Association of IL - 6 , TNF - α and IL - 10 gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus. Molecular Biology Reports. 2013;40(11):6271-9.

171. Yih-Hsin C, Chien-Ning H, Ming-Yuh S. The C-174G promoter polymorphism of the interleukin-6 (IL-6) gene that affects insulin sensitivity in Caucasians is not involved in the pathogenesis of Taiwanese type 2 diabetes mellitus. Eur Cytokine Netw. 2004;15(2):117-9.
172. Karadeniz M, Erdogan M, Berdeli A, Yilmaz C. Association of Interleukin-6 −174 G>C Promoter Polymorphism with Increased Risk of Type 2 Diabetes Mellitus Patients with Diabetic Nephropathy in Turkey. Genetic Testing and Molecular Biomarkers. 2013;18(1):62-5.
173. Papaoikonomou S, Tentolouris N, Tousoulis D, et al. The association of the 174G>C polymorphism of interleukin 6 gene with diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. Journal of Diabetes and its Complications. 2013;27(6):576-9.
174. Rudofsky Jr G, Schlotterer A, Reismann P, et al. The− 174G> C IL-6 gene promoter polymorphism and diabetic microvascular complications. Hormone and Metabolic Research. 2009;41(4):308-13.
175. Hajeer AH, Hutchinson IV. TNF-α gene polymorphism: Clinical and biological implications. Microscopy Research and Technique. 2000;50(3):216-28.
176. Shiau MY, Wu CY, Huang CN, et al. TNF-α polymorphisms and type 2 diabetes mellitus in Taiwanese patients. Tissue Antigens. 2003;61(5):393-7.
177. Jamil K, Jayaraman A, Ahmad J, et al. TNF-alpha −308G/A and −238G/A polymorphisms and its protein network associated with type 2 diabetes mellitus. Saudi Journal of Biological Sciences. 2017;24(6):1195-203.
178. Sheu WH-H, Lee W-J, Lin L-Y, et al. Tumor necrosis factor [alpha] -238 and -308 polymorphisms do not associate with insulin resistance in hypertensive subjects. Metabolism. 2001;50(12):1447-51.
179. Day CP, Grove J, Daly AK, et al. Tumour necrosis factor-alpha gene promoter polymorphism and decreased insulin resistance. Diabetologia. 1998;41(4):430-4.
180. Feng R, Li Y, Sun C. TNF-alpha-238, -308 polymorphisms, and diabetes. Acta Diabetologica. 2011;48(3):251.

181. Hu Z-w, Luo H-b, Xu Y-m, et al. Tumor necrosis factor-alpha gene promoter polymorphisms in Chinese patients with nonalcoholic fatty liver diseases. Acta Gastro-Enterologica Belgica. 2009;72(2):215-21.
182. Ahmad J, Zubair M, Malik A, et al. Cathepsin-D, Adiponectin, TNF-α, IL-6 and hsCRP plasma levels in subjects with diabetic foot and possible correlation with clinical variables: A multicentric study. The Foot. 2012;22(3):194-9.
183. Karakas A, Arslan E, Cakmak T, et al. Predictive value of soluble CD14, Interleukin-6 and procalcitonin for lower extremity amputation in people with diabetes with foot ulcers: A pilot study. Pakistan Journal of Medical Sciences. 2014;30(3):578.
184. Mir K, Pugazhendhi S, Paul M, et al. Heat-shock protein 70 gene polymorphism is associated with the severity of diabetic foot ulcer and the outcome of surgical treatment. British Journal of Surgery. 2009;96(10):1205-9.
185. Ocaña MG, Valle-Garay E, Montes AH, et al. Bax gene G(-248)A promoter polymorphism is associated with increased lifespan of the neutrophils of patients with osteomyelitis. Genetics in Medicine. 2007;9(4):249-55.
186. Tsezou A, Poultsides L, Kostopoulou F, et al. Influence of Interleukin 1α (IL-1α), IL-4, and IL-6 Polymorphisms on Genetic Susceptibility to Chronic Osteomyelitis. Clinical and Vaccine Immunology. 2008;15(12):1888-90.
187. Corbalan M, Marti A, Forga L, et al. Influence of two polymorphisms of the tumoral necrosis factor-alpha gene on the obesity phenotype. Diabetes, Nutrition & Metabolism. 2004;17(1):17-22.
188. Hedayati M, Sharifi K, Rostami F, et al. Association between TNF-α promoter G-308A and G-238A polymorphisms and obesity. Molecular Biology Reports. 2012;39(2):825-9.
189. Walston J, Seibert M, Yen C-J, et al. Tumor necrosis factor-alpha-238 and-308 polymorphisms do not associated with traits related to obesity and insulin resistance. Diabetes. 1999;48(10):2096-8.
190. Pocock ES, Alsaigh T, Mazor R, Schmid-Schönbein GW. Cellular and molecular basis of Venous insufficiency. Vasc Cell. 2014;6(1):24.

EKLER

EK-1. BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

Sizi "Diyabetik ayak enfeksiyonu ile hastalığa yol açabilecek genetik belirteçler arasındaki ilişkinin incelenmesi" amacı olan **araştırmaya** davet ediyoruz. Bu araştırmaya katılıp katılmama kararını vermeden önce, araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını bilmeniz gerekmektedir. Bu nedenle bu formun okunup anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Eğer anlayamadığınız ve sizin için açık olmayan şeyler varsa, ya da daha fazla bilgi isterseniz bize sorunuz.

Bu çalışmaya katılmak tamamen **gönüllülük** esasına dayanmaktadır. Çalışmaya **katılmama** veya katıldıktan sonra herhangi bir anda çalışmadan **çıkma** hakkında sahipsiniz. **Çalışmayı yanıtlamanız, araştırmaya katılım için onam verdiğiniz** biçiminde yorumlanacaktır. Size verilen **formlardaki** soruları yanıtlarken kimsenin baskısı veya telkini altında olmayın. Bu formlardan elde edilecek bilgiler tamamen araştırma amacı ile kullanılacaktır.

Çalışmanın Adı: Diyabetik Ayak Enfeksiyonu ile IL-6 (-174 G>C) ve TNF-α (-238 G>A) Gen Polimorfizmleri Arasındaki İlişkinin İncelenmesi

Amacı: Bu çalışma diyabetik ayak enfeksiyonu ile hastalığa yol açabilecek genetik belirteçler arasındaki ilişkinin incelenmesi amacıyla planlanmıştır. Bu gen bölgesindeki değişimlerin doğrudan ya da dolaylı olarak DAE' ye yatkınlığı ya da hastalığın şiddeti ve tedavi sonucu arasındaki ilişkisini belirlemek hedeflenmiştir. Hastalık hakkında faydalı olacak bilgilerin elde edilmesi, elde edilecek bilgilerin daha sonraki hastalara faydalı olmak, yeni tedaviler geliştirmek için önem arz etmektedir.

Metod: Araştırmaya katılan gönüllülerden sadece 1 kez kan alınacaktır. Alınan kandan genetik materyal elde edilecektir. Elde edilen materyalden diyabetik ayak enfeksiyonu ile ilişkili olabilecek genetik belirteçler incelenecektir. Çalışmalar Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanemiz laboratuvarlarında yapılacaktır.

Gönüllünün araştırmaya katılacağı süre: Kan alma süresi bir - iki dakika

Karşılaşılabilecek güçlükler: Kan alma sırasında acıma ve o bölgede morarma görülebilir.

Kişi veya kişiler için araştırmadan beklenilen tıbbi yarar: Bu araştırmada şu anda takip edilen hastalardan ziyade sonraki hastalar için ülkemizde sık görülen bu hastalık için ülkemize ait yeni bilgilerin oluşması, bu çalışmadan çıkarılan

sonuçların hastalığın tanı ve destek tedavilerini geliştirme konusunda da başka insanların yararına kullanılabilecek olması yönüyle fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

Muhtemel zarar durumunda gönüllünün veya yakının bilgi için ilişki kuracağı kişinin ismi: Hastadan kan alan kişiye 0442 344 7212 no.lu telefondan başvurabilirsiniz.

- Gönüllü araştırmaya katılmayı red etme hakkına sahiptir
- Gönüllünün kendi rızasına bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma harici bırakılabileceğinin bildirilmesi.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce katılımcıya/gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve katılmam istenen çalışmanın kapsamını ve amacını, gönüllü olarak üzerime düşen sorumlulukları tamamen anladım. **Çalışma hakkında yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı, soru sorma ve tartışma imkanı buldum ve tatmin edici yanıtlar aldım. Bana, çalışmanın muhtemel riskleri ve faydaları sözlü olarak da anlatıldı.** Bu çalışmayı istediğim zaman ve herhangi bir neden belirtmek zorunda kalmadan bırakabileceğimi ve bıraktığım takdirde herhangi bir olumsuzluk ile karşılaşmayacağımı anladım.

Bu koşullarda söz konusu araştırmaya kendi isteğimle, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Katılımcının

Adı-Soyadı:

İmzası:

Telefon no:

Adresi (varsa, faks no.):

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasisinin

Adı-Soyadı:

İmzası:

Telefon no:

Adresi (varsa, faks no.):

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı-Soyadı:

İmzası:

Gerekiyorsa Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin

Adı-Soyadı:

İmzası:

EK-2. DİYABETİK AYAK ENFEKSİYONU HASTA TAKİP FORMU

Adı-Soyadı: **Telefon numarası:**
Dosya Numarası: **Meslek:**
Yaş:
Cinsiyet: Kadın: □ Erkek: □
Yaşadığı Yer: Köy: □ İlçe: □ İl: □
Eğitim Düzeyi: Okuma-yazma bilmiyor: □ İlköğretim: □ Lise: □ Üniversite:□
Diyabet tanı süresi:
İnsülin/Oral antidiyabetik kullanımı:
Hastanede kalış süresi: **Yatış Tarihi:** **Çıkış Tarihi:**
Son 3 ay içerisinde AB kullanımı:

Lezyon sınıflaması PEDİS

Grade I: Enfeksiyon yok □

Grade II : Deri yumuşak doku enfeksiyonu □

Grade III: Yaygın selülüt veya derin enfeksiyon □

Grade IV: SIRS varlığı □

Ateş >38°C ya da <36
Kalp hızı 90 atım/dak.
Solunum sayısı >20/dak yd PaCO2<32mmHg
Beyaz küre sayısı >12000 ya da <4000 ya da > %10 band form

Laboratuvar

Lökosit:
Neut % / lenf% :
Hb:
Plt:
CRP:
Sedim:
BUN/Kreatinin:
Glukoz:
Ast/Alt:
Hba1c:
T.KOL/ LDL / HDL /VLRL :

Komorbid Özellikler

Hemodiyaliz: □
İskemik kalp hastalığı: □
Hiperkolesterolemi: □
Hipertansiyon: □
Sigara kullanmış (yıl): □
Aktif sigara kullanıyor (yıl): □
Periferik arter hastalığı: □
Periferik venöz yetmezlik: □
Periferik nöropati: □

Amputasyon varlığı

Major (Diz ütü/altı): □
Minör (Bilek altı): □

Osteomiyelit varlığı:
Ateş:
Akıntı:
Ödem:
Nekroz:
Geçirdiği operasyonlar:

Taburculukta verilen tedavi:

Fizik muayene:
ANTA:
Boy: **Kilo:**
Yaranın fizik muayenesi:
Yara oluşum zamanı:
Osteomiyelit : Var Yok

Başlangıç tedavi: Yara bakımı □

Debritman □

Ampütasyon □
Antibiyotik ve süresi: Oral:
IV:
Hiperbarik tedavi:
Yara Kültür Sonuçları:
Kullandığı AB: